АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIV. ВЫП. 1

ЯНВАРЬ—ФЕВРАЛЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1955

BULLETIN MYCOLOGICAL
25 MAY 1955

МИКРОБИОЛОГИЯ

Главный редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, УЛ. КУЙБЫШЕВА, 8. КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:

Москва Б-64, Подсосенский пер., 21, Издательство Академии наук СССР,

Редакция журнала «Микробиология»

АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

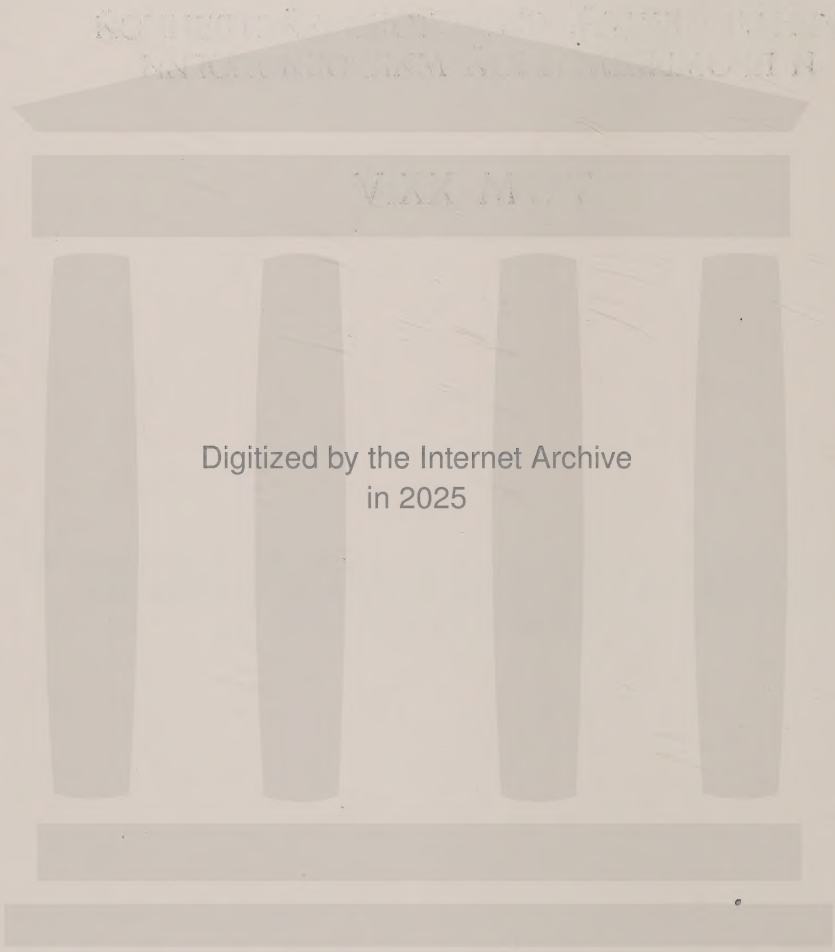
МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIV

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1955



Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/microbiologiia_january-february-1955_24_1

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ОБРАЗОВАНИЯ МЕТАНА ПОД ВЛИЯНИЕМ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ КЕРНОВ ГАЗОНЕФТЕНОСНЫХ ПЛАСТОВ ВТОРОГО БАКУ *

Н. Б. Нечаева

Как известно, в нефтяных месторождениях почти всегда наблюдается скопление горючих газов, в состав которых в большом количестве входит метан. Происхождение этих газов еще окончательно не выяснено. Существует мнение, что сопровождающие нефть газы образовались в давнопрошедшие геологические времена. Наряду с этим высказывается также предположение о возможности образования метана в настоящее время — под влиянием жизнедеятельности бактерий, обитающих в нефтяных месторождениях теперь.

Первые работы в этом направлении были проведены Кузнецовым и Экзерцевым [7, 17, 18].

Наши исследования имели целью дальнейшее выяснение этого вопроса. Мы ставили своей задачей, с одной стороны, изучить процесс образования метана из углекислоты и водорода в самих кернах в лабораторных условиях под воздействием содержащихся в них бактерий, с другой,— исследовать процесс образования метана в культурах бактерий, выделенных из кернов.

Материалом для работы послужили пять образцов кернов, любезно предоставленные нам С. И. Кузнецовым.

Восстановление углекислоты до метана молекулярным водородом в образцах керна

Для воспроизведения указанного процесса в самих кернах из месторождений Второго Баку были взяты: два образца (№ 22 и № 64) нефтеносного песчаника из угленосной свиты Сызранского месторождения и один образец песчаника из верейского горизонта Елшанской площади.

Исследуемые керны предварительно хорошо обжигались в пламени газовой горелки для того, чтобы избежать загрязнения их микрофлорой с поверхности. Потом их раскалывали на отдельные куски в стерильных условиях и только внутреннюю их часть размельчали до порошкообразного состояния, также соблюдая, по возможности, стерильные условия. Этим порошком заполнялись четыре стерильные стеклянные трубки длиной 28 см и диаметром 1,8 см; таким образом, объем каждой трубки равнялся 70 см^3. В образцах керна определялась их скважность [4]. Керн в трубках пропитывался пластовой водой, взятой из соответствующего месторождения керна [5], или стерильным водным раствором из солей хлористого аммония и фосфорнокислого калия, так как предполагалось, что при интенсивном развитии бактерий этих солей в керне окажется недостаточно. После этого трубки присоединялись к газометру, наполненному смесью газов из одной части углекислоты и четырех частей водорода. Трубки с керном помещались в термостат с температурой 32—33°; остальные части общей установки находились вне термо-

* В работе принимала участие старший лаборант О. Н. Смирнова, которой приношу свою искреннюю благодарность.

стата. Для удаления воздуха из трубок с керном через них пропускали газ из газометра в десятикратном количестве по отношению к скважности породы. Потом газ оставлялся внутри кернов на 1—5, а иногда и на большее число дней. Перед тем как брать из трубок пробу газа, в них измерялось давление. При уменьшении давления, т. е. уменьшении объема газа, можно было ожидать образования метана. Для того чтобы можно было взять пробу газа из таких трубок, в них вводили азот, предварительно очищенный от кислорода (до выравнивания давления внутри трубок с атмосферным давлением). После этого проба газа легко набиралась в бюретку газоанализатора системы ВТИ [1]. Анализ газа проводился обычным способом — углекислота и кислород поглощались специальными растворами, а водород и метан сжигались [3, 11].

После взятия проб газа для анализа через керн в течение нескольких дней снова пропускалась обычная смесь газа. Затем газ в кернах оставляли на сутки или больше и повторно брали пробы газа для исследования; таким путем вели опыт в течение 9 месяцев.

Результаты анализов

В пробах газа, взятых из трубок с керном, через две недели был обнаружен метан (табл. 1).

Таблица 1

Образование метана в нефтеносном песчанике

(Скважность 50%)

Продолжительность опыта в сутках *	Количество газа, взятого из трубок для анализа, в мл	Количество CH_4 в мл			Образовавшийся CH_4 в % к теоретически вычисленному
		во взятой пробе газа	на весь объем газа в трубке		
			найдено	теоретически	
2	19,00	0,10	0,18	—	—
1	19,00	0,20	0,37	—	—
2	17,60	0,59	1,17	5,7	21
1	20,35	0,35	0,60	2,6	35
5	20,29	0,30	0,51	—	—
5	19,00	0,37	0,68	—	—
1	14,13	0,69	1,70	2,7	63
1	12,09	0,41	1,19	5,4	22
1	13,80	0,47	1,19	5,1	23

* После каждого отбора проб газа для анализа трубки снова заполнялись смесью газов, как было сказано выше.

Таким образом, было установлено экспериментально, что в образцах керна из газонефтеносных пластов Второго Баку происходило образование метана из углекислоты и молекулярного водорода.

Просматривая таблицу, можно видеть, что первые два анализа газа из трубок с песчаником дали наименьшее количество метана. В последующих анализах газа метана обнаруживалось значительно больше. Количество образовавшегося метана, вычисленное по отношению к объему потребленной смеси газа, колебалось в пределах 22—63%; в трубках же с известняком метана было меньше: 16—22%.

Анализ проб газа, взятых через более длительные сроки, не указывал на то, что количество метана увеличивалось со временем. Возмож-

[1] Всесоюзный теплотехнический институт.

но, что количество газовой смеси, необходимое для его длительного образования, оказывалось недостаточным.

Количество образовавшегося метана за одни сутки было значительным. Если пересчитать на 1 тонну нефтеносного песчаника, то за это время выделится метана 42,5 л.

Образование метана в бактериальных культурах

Параллельно с опытами по изучению образования метана из углекислоты и водорода в образцах самих кернов велись исследования микроорганизмов, способных восстанавливать углекислоту до метана при помощи молекулярного водорода.

Метанобразующие бактерии являются строгими анаэробами, поэтому при их выделении и культивировании обращалось особое внимание на создание анаэробных условий.

Для опытов употреблялись колбы Вюрца, емкостью в 250 мл, с запаянными горлами. Такие колбы имели только одно небольшое отверстие у отростков колб. Для наполнения колб питательной средой и газами из них предварительно выкачивался воздух при помощи насоса. Употреблялась среда следующего состава: водопроводная вода — 1 л; NH_4Cl — 0,5 г, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ — 0,01 г; $MgCl_2 \cdot 2H_2O$ — 0,01 г; $NaCl$ — 10 г; Na_2HPO_4 — 3,5 г; KH_2PO_4 — 1,5 г; Na_2CO_3 — 0,2—0,5 г. К 1 л стерильной среды добавляли 1 мл раствора смеси микроэлементов стерилизованного отдельно [2] [10, 12], H_3BO_3 — 5 г; $(NH_4)_2MoO_4$ — 5 г; KJ — 0,5 г; $NaBr$ — 0,5 г; $ZnSO_4$ — 0,2 г; $Al_2(SO_4)_3$ — 0,3 г; $CuSO_4$ — 0,02 г; $CoCl_2$ — 0,02 г в дестиллированной воде.

Для удаления кислорода и понижения окислительно-восстановительного потенциала к среде добавляли 0,02—0,04 г $Na_2S \cdot 9H_2O$. Среда нейтрализовалась 10%-ным раствором HCl до pH = 7,0—7,1, после чего прибавлялся стерильный раствор индикатора фенолрот из расчета 0,003 г на 1 л (измененная среда Stadtman a. Barker [21]). Среда засевалась измельченным в порошок керном (подготовка его к посеву описана в начале статьи) в количестве 1 г. Засеянная среда (60 мл) засасывалась в колбы при помощи разрежения. После этого колбы 2—3 раза эвакуировались, причем каждый раз их снова наполняли смесью газа из одной части углекислоты и четырех частей водорода. Таким образом достигалось то, что содержание кислорода в колбах не превышало сотых долей миллилитра, а остаток газов составлял около 40 мл при нормальном давлении. Иногда разрежение доводилось до такой степени, что закипала жидкость внутри колб. Тогда вводилась смесь газа в последний раз и свободные концы резиновых трубок, надетые на отводные трубки колб Вюрца, затыкались стеклянными палочками, зажимы с них снимались, а сами трубки с палочками опускались в пробирки с какой-нибудь заградительной жидкостью (ртуть или вода). Таким способом удавалось сохранить культуры от проникновения воздуха в условиях разреженного пространства в колбах и от диффузии газов из колб через стенки резиновых трубок.

Колбы помещались в термостат при 32—33° и ежедневно взбалтывались для лучшего соприкосновения бактериальных клеток с газом.

По окончании опытов, а иногда и в течение их брались пробы газа для анализа.

Чтобы определить количество поглощенного газа и иметь возможность взять пробу газа из культур с пониженным давлением, в колбы вводился водород или очищенный от кислорода азот до равновесия с атмосферным давлением, как это указывалось при описании исследования самих кернов.

---

[2] Смесь микроэлементов добавляли к среде только при выделении чистых культур и при их культивировании.

Количество введенных и поглощенных газов и образовавшегося метана вычисляли обычным способом, применяемым при газовых анализах [3, 11].

Некоторые опыты ставились с органическими веществами, в этом случае в колбы вводилось 200 мл среды. Остальное пространство (около 100 мл) заполнялось газом — азотом или азотом с прибавлением углекислоты или одним водородом.

В контрольные колбы вносили убитую 20-минутным кипячением (в ампулах) культуру в таком же количестве из той же суспензии, которая употреблялась для заражения опытных колб.

В опытах с муравьинокислым натрием определялось количество образовавшегося метана и так же количество оставшихся муравьиной кислоты и углекислоты.

Количественное определение муравьиной кислоты проводилось общепринятым методом перегонки исследуемой жидкости с водяным паром из подкисленной среды. Полученный дистиллят титровался 0,1 *N* раствором барита в присутствии индикатора фенолфталеина. Кроме того, делались качественные реакции на муравьиную кислоту для обнаружения ее в дистилляте [1]. Количественное определение углекислоты велось по методу Запрометова [6].

Получение накопительных культур метанобразующих бактерий из кернов производилось на минеральной среде в атмосфере углекислоты и водорода.

Материалом для получения культур служил нефтеносный песчаник с очень большой глубины (образец № 64), не содержащий споровых бактерий, и с ним и были проведены все дальнейшие исследования.

Получив накопительные культуры, энергично образующие метан из углекислоты и водорода на минеральной среде, мы перешли к выделению чистой культуры. Для этой цели делались пересевы на поверхность или вглубь выщелоченного агара, приготовленного на минеральной среде и разлитого в чашки Петри. Чашки Петри ставили в эксикатор, который наполняли обычной смесью газов из углекислоты и водорода. Через две — четыре недели чашки Петри вынимались из эксикатора; из выросших колоний или из кусочков агара, где наблюдалось образование пузырков газа, делались посевы на жидкие или плотные минеральные среды. Культивирование велось также в атмосфере углекислоты и водорода. Кроме того, делались посевы в пробирки с жидкой и агаровой минеральными средами с добавлением к ним различных органических веществ — различные спирты и соли кислот (табл. 2 и 3). Среды наливались высоким слоем, пробирки закрывали каучуковыми пробками, чтобы создать по возможности анаэробные условия.

Ни на минеральной среде в присутствии углекислоты и водорода, ни на минеральной среде с добавлением к ней органических веществ нам не удалось получить колоний метанобразующих бактерий. Большинство выделенных бактерий не образовывало метан и являлось спутниками метанобразующих бактерий; в некоторых же колониях спутников наблюдались клетки метанобразующих бактерий. Часть сопутствующих микроорганизмов быстро исчезла еще в накопительных культурах, но от одного из них мы не могли освободиться, хотя применяли самые разнообразные способы разделения. Чистая культура этого спутника была не способна восстанавливать углекислоту до метана с помощью молекулярного водорода и не давала роста на минеральных средах в присутствии углекислоты и водорода.

Бактерии, которые хорошо развивались на минеральных средах в атмосфере углекислоты и водорода и энергично образовывали метан, представляли собой очень тонкие, слабо изогнутые палочки различной длины. Размеры клеток колебались от 3,3 μ до 6 μ при ширине в 0,3—0,25μ. При неблагоприятных условиях бактерия образовывала нити, по-

являлась зернистость в клетках. Морфологически палочка сходна с Methanobacterium Omelianskii [9]. Палочка неспороносна и неподвижна; она очень трудно окрашивалась различными красками и приходилось усиливать их действие нагреванием и применять двойное окрашивание.

При микроскопическом наблюдении полученные культуры производили впечатление вполне чистых. Но стоило только из таких «чистых» культур сделать посев на мясопептонные среды большим количеством осадка, как на них развивалась более крупная прямая или слабо изогнутая палочка. Ее ширина равнялась 0,5 μ. Эта палочка хорошо окрашивалась метиленовой синью, метанобразующая же бактерия совсем не окрашивалась ею, так как она восстанавливала синьку.

Не имея возможности дольше очищать культуры метанобразующих бактерий, мы повели опыты двумя параллельными сериями. В одной из них среда заражалась визуально чистой культурой метанобразующих бактерий, в другой — чистой культурой спутника.

Из литературных данных известно, что метанобразующие бактерии обладают большой специфичностью при использовании различных органических веществ, как донаторов водорода для восстановления углекислоты до метана; это является даже одним из признаков для их идентификации [8].

В связи с этим нами были исследованы разнообразные органические соединения в анаэробных условиях. Было важно выяснить, не могут ли выделенные бактерии использовать при образовании метана не только молекулярный водород, но и водород каких-нибудь органических веществ. Для этой цели бралась жидкая минеральная среда, к которой добавлялись те или иные вещества в разных концентрациях. Исследования велись в двух параллельных сериях, как было ранее сказано. Результаты опытов представлены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Образование метана на среде с предельными одноатомными и многоатомными спиртами

Культуры	Спирты						
	метиловый	этиловый	пропиловый	бутиловый	амиловый	глицерин	маннит
Визуально чистая культура бактерий, образующих CH_4 из CO_2 и H_2	Роста и газообразования не наблюдается	Развитие характерных клеток бактерии без газообразования	Роста и газообразования не наблюдается	Слабый рост. Много инволюционных клеток		Хорошее развитие бактерии без газообразования	Роста и газообразования не наблюдается
Чистая культура спутника	Хорошее развитие без газообразования			Развития нет в течение месяца		Хорошее развитие без газообразования	

Примечание. Концентрация спиртов 0,5—2%.

Из табл. 2 и 3 видно, что метанобразующая бактерия не способна образовывать метан ни из одного, указанного в таблицах, органического соединения, кроме солей муравьиной кислоты.

Таблица 3

Образование метана на среде с органическими одноосновными и многоосновными кислотами предельного и непредельного ряда и оксикислотами

Культуры	Кислоты						
	муравьиная	уксусная и пропионовая	масляная	олеиновая	щавелевая	янтарная	молочная
Визуально чистая культура бактерий, образующих CH_4 из CO_2 и H_2	Сильный и быстрый рост. Энергичное образование CH_4	Роста и газообразования не наблюдается			Хорошее развитие без газообразования		
Чистая культура спутника	Хорошее развитие без газообразования						

Примечание. Концентрация солей кислот — 0,1%. Муравьинокислого натрия — 0,1—0,75%. При последней концентрации еще наблюдались слабый рост и слабое газообразование в культурах метанобразующих бактерий.

Таким образом, результаты наших исследований позволяют отождествить нашу форму по ее биохимическим свойствам с Methanobacterium formicum n. sp. Schnellen. Что касается ее морфологических данных, мы сказать ничего не можем, так как Шнеллен дал описание своей бактерии только в докторской диссертации, сделанной в Голландии, которую мы не смогли достать.

Спутник ее хорошо развивался на всех взятых веществах, кроме бутилового и амилового спиртов, при концентрациях около 1%, но никакого газообразования не наблюдалось. При посевах культур спутника с бутилового и амилового спирта в мясопептонные среды развития не появлялось в течение месяца и даже больше, что давало надежду на возможность освободиться от спутника на средах с этими спиртами.

Из культур метанобразующих бактерий на амиловом спирте были сделаны пересевы в колбы Вюрца в обычную минеральную среду с 1% амилового спирта. Свободное от среды пространство колбы заполнялось смесью азота и углекислоты. Последняя добавлялась в количестве 8%. Однако образования метана в таких культурах не наблюдалось. Видимо, Methanobacterium formicum не способна использовать амиловый спирт как донатор водорода.

В дальнейшем выяснилось, что бактерии не погибли в культурах с амиловым спиртом, так как развились, попав в благоприятные для себя условия существования. Так, при пересеве культуры на минеральную среду с муравьинокислым натрием началось газообразование, хотя и с большим опозданием — через два месяца, а при пересеве на мясопептонный бульон развился спутник. Таким образом, изолировать микроорганизмы этим путем также не удалось.

Динамика процесса восстановления углекислоты до метана посредством молекулярного водорода изучалась на активных культурах Methanobacterium formicum, постоянно культивируемых на минеральной среде в атмосфере углекислоты и водорода.

Опыты проводились в колбах Вюрца. Анализы проб газа, взятых из колб, делались каждую декаду. Для сохранения в колбах нормального давления в них вводился азот. Смесь же газа из углекислоты и водорода ни разу не добавлялась в течение всего опыта. Результаты данных опытов приводятся в табл. 4.

Таблица 4

Динамика процесса образования метана из углекислоты и водорода

№ опыта	Количественные изменения состава газа в культурах за декады в мл				Всего газов в мл	% образованного CH_4 к поглощенной CO_2
		первая	вторая	третья		
I	Поглотилось CO_2	13	5	3,8	21,8	
	Образовалось CH_4	12,5	6	2,3	20,8	95,4
II	Поглотилось CO_2	11	14		25	82
	Образовалось CH_4	6,6	13,9		20,5	

Примечание. Количество газов в табл. 4—8 приведено к давлению 760 мм и 0°.

Рассматривая табл. 4, мы замечаем, что процесс образования метана шел с различной скоростью. Повидимому, это происходило от того, что в первом опыте для посева была взята 12-дневная культура, а во втором — 30-дневная. Кроме того, в первом опыте почти все количество потребленной углекислоты пошло на образование метана (95,4%), во втором опыте — только 82%. Окислительно-восстановительный потенциал культур был около пяти.

Чтобы убедиться, не образуются ли в культурах какие-либо другие углеродистые соединения, кроме метана, мы провели опыты для выяснения баланса углекислоты.

Опыты проводились в запаянных колбах Вюрца на обычной минеральной среде с карбонатом натрия в атмосфере углекислоты и молекулярного водорода. Кроме того, употреблялась минеральная среда с карбонатом натрия и с муравьинокислым натрием, при этом свободное пространство колб заполнялось смесью из различных газов.

До и после опыта определялся состав газа и количества муравьиной кислоты и углекислоты в питательных средах.

Образовавшийся метан и муравьиная кислота, содержащаяся в культурах, выражены в эквивалентных количествах углекислоты (табл. 5—8).

Из этих таблиц видно, что Methanobacterium formicum образует метан как при восстановлении углекислоты молекулярным водородом, так и из муравьиной кислоты. В культурах с азотом и с азотом и углекислотой наблюдалось наибольшее потребление муравьиной кислоты — оно было почти в 6—13 раз больше, чем в культуре с водородом, где только треть исходного количества муравьиной кислоты была использована; метана же образовалось в присутствии газообразного водорода значительно больше, чем в предыдущих культурах. Видимо, молекулярный водород легче потреблялся на образование метана, чем водород муравьиной кислоты.

В опыте № 5 и 6 нам не удалось подвести баланса углекислоты. Повидимому, образование метана шло через какие-нибудь промежуточные продукты, которые не улавливались нами.

Газообразная углекислота в количестве 3 мг (табл. 7), вероятно, выделилась из среды, так как она не была введена в состав газа. В конце

Таблица 5

Баланс углекислоты в культуре при образовании метана из муравьиной кислоты в атмосфере азота в мг CO_2

Материалы для анализа	В начале опыта			В конце опыта			Разница в количестве CO_2
	CO_2	HCOOH	CH_4	CO_2	HCOOH	CH_4	
Смесь газов над средой	0	—	0	0	—	22,5	
Среда (100 мл) . . .	516	326	—	633	57	—	
Итого в мг CO_2 . .	842			712,5			129,5

Таблица 6

Баланс углекислоты в культуре при образовании метана из муравьиной кислоты в атмосфере азота и углекислоты в мг CO_2

Материалы для анализа	В начале опыта			В конце опыта			Разница в количестве CO_2
	CO_2	HCOOH	CH_4	CO_2	HCOOH	CH_4	
Смесь газов над средой	8,5	—	0	5,3	—	28,7	
Среда (100 мл) . . .	648	325	—	763	26	—	
Итого в мг CO_2 . .	981,5			823			158,5

Таблица 7

Баланс углекислоты в культуре при образовании метана из муравьиной кислоты в атмосфере водорода в мг CO_2

Материалы для анализа	В начале опыта			В конце опыта			Разница в количестве CO_2
	CO_2	HCOOH	CH_4	CO_2	HCOOH	CH_4	
Смесь газов над средой	3	—	0	0	—	73,3	
Среда (100 мл) . . .	633	347		805	103	—	
Итого в мг CO_2 . .	983			981,3			1,7

опыта количество углекислоты увеличилось за счет разложения муравьиной кислоты, что можно было наблюдать и в других культурах (табл. 5 и 6). Образование метана в культурах с муравьиной кислотой постепенно ослабевало и, наконец, приостанавливалось, хотя муравьиная кислота далеко еще не была использована. Возможно, что причиной этого являлось сильное подщелачивание среды (pH = 10).

Концентрация водородных ионов в минеральной среде изменялась очень незначительно — с 7,0—7,1 до 7,4—7,6.

Таблица 8

Баланс углекислоты в культуре при образовании метана из углекислоты и молекулярного водорода в мг CO_2

Материалы для анализа	В начале опыта		В конце опыта		Разница в количестве CO_2
	CO_2	CH_4	CO_2	CH_4	
Смесь газов над средой	147	0	48	137,5	
Среда (100 мл)	748	—	706	—	
Итого в мг CO_2	895		891,5		3,5

Из опытов по восстановлению углекислоты молекулярным водородом (табл. 8) видно, что 97,5% потребленной углекислоты пошло на образование метана. Такое же соотношение между использованной углекислотой и образовавшимся метаном наблюдалось в предыдущих опытах.

Излишек потребленной углекислоты (2—3,5 мг) в опытах с водородом и с углекислотой и водородом (табл. 7 и 8) следует отнести на синтез вещества бактериальных клеток.

Таким образом, повидимому, в культурах Methanobacterium formicum образование метана идет по уравнению Söhngen [20]: $CO_2 + 4H_2 \rightarrow \rightarrow CH_4 + 2H_2O$, тем более, что и анализы молодых культур (10—12 суток), образующих метан, не обнаружили летучих кислот.

Результаты анализов

Исследование кернов газонефтеносных пластов из некоторых месторождений Второго Баку показало, что в них распространены микроорганизмы, способные образовать метан путем восстановления углекислоты водородом.

Полученные культуры отличались высокой активностью. Количество образовавшегося метана по отношению к количеству потребленной углекислоты достигало 95—97,5%. Этот процесс в культурах не сопровождался образованием промежуточных продуктов в виде кислот, как было установлено при выяснении баланса углекислоты. Это позволяет предполагать, что процесс протекает по уравнению Зенгена: $CO_2 + 4H_2 \rightarrow \rightarrow CH_4 + 2H_2O$.

По своему отношению к различным источникам органического вещества полученная культура сходна с Methanobacterium formicum Schnellen. Она так же хорошо развивалась на муравьиной кислоте и образовывала при этом значительные количества метана.

Для решения вопроса о возможности образования метана в недрах газонефтеносных отложений под влиянием микроорганизмов, обитающих в них, через измельченные керны, смоченные пластовой водой или минеральной средой, пропускали смесь газа из углекислоты и водорода. В этих условиях также установлено образование метана.

Таким образом, проведенное микробиологическое исследование дает основание положительно ответить на вопрос о возможности образования CH_4 в настоящее время.

Что касается исходного материала для образования метана — углекислоты и водорода, то в настоящее время имеется уже достаточно работ, показывающих, что углекислота может образовываться в результате жизнедеятельности бактерий, заселяющих в большом количестве пластовые воды и газонефтеносные породы [7, 15, 16, 17, 18].

Имеются также новые данные в геологической литературе, указывающие на значительное содержание водорода в некоторых природных газах, доходящее до 20 и 35% (Южный Урал, Кузбасс, южный прикаспийский район) [2, 13, 14],— в газах, выделяющихся из грязевых вулканов и пр.

Все это позволяет думать, что образование метана микробиологическим путем протекает не только на поверхности земли, но и на значительной глубине, в частности, в нефтяных и газовых месторождениях.

Изучение микробиологического процесса образования метана на больших глубинах имеет важное значение для выяснения генезиса горючих газов. Необходимы дальнейшие исследования этого вопроса как для выяснения распространения других видов метанобразующих микроорганизмов, вызывающих этот процесс в таких специфических условиях, так и для изучения самого процесса.

Выводы

1. В образцах кернов обнаружены метанобразующие бактерии, вызывающие восстановление углекислоты до метана газообразным водородом.

2. Полученная культура сходна с Methanobacterium formicum Schnellen по способности использовать соли муравьиной кислоты с образованием метана и образовывать метан из углекислоты и молекулярного водорода.

3. Результаты нашей работы приводят к заключению, что современное образование метана в газонефтеносных пластах Второго Баку возможно. В пользу этого взгляда говорят также исследования Кузнецова и Экзерцева, показавшие, что метанобразующие бактерии распространены в газовых и нефтяных месторождениях.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 21 IV 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белозерский А. Н. и Проскуряков Н. И. Практическое руководство по биохимии растений. Изд. «Советская наука». 1951.
2. Гуревич М. Г. Обнаружение водорода в газах каменноугольных месторождений Кузбасса. ДАН СССР, 52, № 1, 51, 1946.
3. Дементьева М. И. Анализ углеводородных газов. Гостоптехиздат, 1951.
4. Домрачева Е. А. Физико-механический и химический анализ почвы. Сельхозгиз. 1931.
5. Иванов А. П. К вопросу о химизме вод нефтеносных месторождений Второго Баку. Советская геология, № 10, 1940.
6. Запрометов Б. Г. К вопросу о методах определения гумуса в почвах. Почвоведение, XXII, 49, 1927.
7. Кузнецов С. И. Изучение возможности современного образования метана в газонефтеносных фациях района Саратова и Бугуруслана. Микробиология, XIX, вып. 3, 1950.
8. Нечаева Н. Б. Образование метана микроорганизмами. Микробиология, XXII, вып. 4, 1953.
9. Омелянский В. Л. Fermentation methanique de l'alcohol ethylique. Ann. Inst. Past., 30, 56, 1916.
10. Рефераты Конференции по микроэлементам. Изд. АН СССР. 1950.
11. Соколов В. А. Анализ газов. Гостоптехиздат, 1950.
12. Федоров М. В. Руководство к практическим занятиям по микробиологии, 1951.
13. Хмелевская Л. В. Глубинный водород и его роль в генезисе нефти. Изв. АН СССР, серия геологическая, 4, 107, 1947.
14. Черепеников А. А. Водород в природных газах и в частности в эффузивных породах в Приклинском ущелье на Южном Урале. Сб. посвящ. акад. В. И. Вернадскому. 1936.
15. Штурм Л. Д. Микроскопическое исследование нефтеносных пластовых вод. Микробиология, XIX, вып. 1, 1950.
16. Штурм Л. Д. Материалы по микробиологическому исследованию нефтяных месторождений Второго Баку. Тр. Ин-та нефти, 1, в. 3, 1950.

17. Экзерцев В. А. Микроскопические исследования бактериальной флоры в нефтеносных фациях Второго Баку. Микробиология, XX, вып. 4, 1951.
18. Экзерцев В. А. и Кузнецов С. И. Исследования микрофлоры нефтеносных месторождений Второго Баку. Микробиология, XXIII, вып. 1 и вып. 3, 1954.
19. Kluyver A. J. a. Schnellen Ch. G. On the fermentation of carbon monoxide by pure cultures of methane bacteria — Arch. Biochem., **14**, 57, 1947.
20. Söhngen M. N. Sur le rôle du méthane dans la vie organique. Rec. des trav. chim. des Pays-Bas et de la Belgique, **29**, 238, 1910.
21. Stadtman Th. C. a. Barker H. A. Studies on the methane fermentation. VIII. Traces experiments on fatty acid oxidation by methane bacteria. J. Bact., **61**, 1, 67, 1951.

О МИКСОБАКТЕРИЯХ, ПРИНЯТЫХ ЗА НИТРИФИЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ

А. А. Имшенецкий

Успешное развитие экологического направления в микробиологии привело к углубленному изучению взаимоотношений, существующих между микроорганизмами и внешней средой, а также ассоциаций микробов, обитающих в почве и водоемах. Однако было бы преждевременным считать, что вопросы, связанные с выделением чистых культур микроорганизмов, потеряли свою актуальность.

Изучение физиологии и биохимии микробов только тогда может дать ценные результаты, когда исследования проведены с чистыми культурами микроорганизмов. К сожалению, это, казалось бы, очевидное правило иногда нарушается, так как существуют микробы, выделение которых в чистой культуре представляет особенные трудности. К ним, в частности, относятся нитрифицирующие бактерии.

В 1890 г. С. Н. Виноградский [1] выделил и описал возбудителей нитрификации, а также доказал их способность к хемосинтезу. В дальнейшем, на протяжении 40 лет, многие исследователи в различных странах выделяли обогащенные или чистые культуры возбудителей первой фазы нитрификации — Nitrosomonas. Характерно, что всеми без исключения исследователями были выделены культуры, тождественные по своим морфологическим признакам. Это были кокки, удлинявшиеся перед делением, в неокрашенном состоянии сильно преломляющие свет, образующие характерные колонии на плотных средах. Помимо этого «классического» Nitrosomonas, в течение сорока лет не было описано ни одного возбудителя нитрификации, имеющего иную морфологию, если, конечно, не считать ошибочные наблюдения, в которых сообщалось о нитрифицирующей способности гетеротрофных бактерий. Такое положение продолжалось до 1932 г., когда Роммель [11], работавший у С. Н. Виноградского, выделил на пластинках кремнекислого геля новый нитрифицирующий организм, дававший цисты. В дальнейших сообщениях Виноградского и Виноградской был описан ряд микроорганизмов, осуществлявших первую или вторую фазы нитрификации и морфологически отличавшихся от Nitrosomonas и Nitrobacter. Все это были бактерии палочковидной или извитой формы, образующие налеты на поверхности плотных питательных сред или дающие скопления клеток шаровидной формы (цисты). Ограничимся только перечислением вновь установленных родов: Nitrosocystis, Nitrosospira, Nitrosogloea, Bactoderma, Nitrocystis и Microderma.

После опубликования работ Виноградского и Виноградской прошло десять лет, но в литературе ни разу не появлялось сообщений, в которых был бы описан представитель хотя бы одного из этих родов. В 1945 г. нами была выделена смешанная культура Nitrosomonas, которая состояла из возбудителя нитрификации и миксобактерии Sorangium symbioticum. Этот вид миксобактерии, выделенный нами в чистой культуре, не вызывал нитрификации и не развивался на пластинках кремнекислого геля, пропитанных средой Виноградского. В то же время он образовывал в условиях симбиоза с Nitrosomonas типичные для Sorangium плодовые тела, которые были тождественны с цистами Nitrosocystis, изображенными на рисунках, приведенных в работах Виноградского и Вино-

градской [12]. В дальнейшем появилось два сообщения [9, 10], авторы которых поддержали нашу точку зрения, согласно которой новые нитрифицирующие микроорганизмы представляют собой миксобактерии, развивающиеся в условиях симбиоза с Nitrosomonas. Морфология, характер роста, особенности жизненного цикла — все говорило о том, что данные организмы были бактериями-спутниками. В настоящей статье приводятся некоторые наблюдения, имеющие отношение к этому вопросу.

Морфология Nitrosomonas и миксобактерий

Длительное изучение накопительных культур Nitrosomonas убедило нас в том, что сопутствующая микрофлора довольно однообразна по своему систематическому положению. Как правило, бактерии, сопутствующие Nitrosomonas, относятся к миксобактериям, микобактериям и к роду Achromobacter. Как правило, никогда не удается обнаружить спороносных почвенных бактерий, сарцин, грибов или представителей других систематических групп микроорганизмов.

Этому вопросу посвящена работа Рубан, выполненная в нашей лаборатории, результаты которой уже опубликованы [7]. Особенно часто в качестве сопутствующих бактерий встречаются миксобактерии. На это обстоятельство обычно мало обращали внимания общие и почвенные микробиологи. При посеве комочков почвы на пластинки кремнекислого геля, пропитанного средой Виноградского, вокруг комочков почвы возникают зоны растворения мела. Микроскопия этих зон при малом увеличении позволяет иногда обнаружить группировки клеток или даже оформленные плодовые тела миксобактерий. Высевы из таких зон на чашки с картофельным агаром дают возможность получить чистые культуры миксобактерий, относящиеся к роду Sorangium. Вегетативные клетки этих миксобактерий представляют собой палочки с закругленными концами. В дальнейшем палочки укорачиваются, образуя овальные микроцисты. Последние объединяются в крупные цисты круглой формы. Совокупность таких цист дает плодовое тело. Существенно, что микроцисты Sorangium почти не отличимы по своему внешнему виду от клеток Nitrosomonas. Образование плодовых тел наблюдается как на поверхности плотных, так и в жидких питательных средах при посеве обогащенной культуры Nitrosomonas.

Представители рода Sorangium, изолированные нами, обычно давали на картофельном агаре гладкие, блестящие колонии различных оттенков желтого или желто-зеленого цвета. Под микроскопом в колониях обнаруживались группировки клеток, цисты и плодовые тела, состоящие из цист. Для структуры колоний этих организмов характерна следующая деталь. Если при посеве взвеси клеток на поверхность картофельного агара стеклянный шпатель производил ничтожные, незаметные невооруженным глазом, бороздки в агаре, то в участках колонии, располагавшихся над бороздками, формировались линейно расположенные в виде четок цисты и плодовые тела миксобактерий. Мы не останавливаемся на более детальном описании биологии представителей Sorangium, изолированных из обогащенных культур Nitrosomonas, так как эти культуры очень мало отличались от изолированного нами Sorangium symbioticum, описанного подробно нами ранее [2]. Варьировала только величина клеток и окраска колоний. Интересно отметить, что при посеве почвы, из которой в 1944 г. была выделена смешанная культура, состоящая из Nitrosomonas и Sorangium symbioticum, в 1954 г. снова были получены те же микроорганизмы. При сохранении высушенной почвы в течение 10 лет они остались живы.

Длительное, продолжавшееся несколько лет, изучение чистых культур Nitrosomonas не оставляет никаких сомнений в том, что клетки этого вида всегда однотипны. Это шаровидные или слегка удлиненные эле-

менты, которые никогда не образуют плодовых тел и не меняют своей морфологии. Присутствие в культуре Nitrosomonas палочковидных элементов, а тем более длинных или спиралевидных клеток говорит о том, что культура — не чистая, наиболее часто в этих случаях в ней присутствуют миксобактерии. Мы ни разу не наблюдали в чистых культурах Nitrosomonas больших скоплений клеток шаровидной формы, описанных Виноградским как зооглейная стадия Nitrosomonas. Нужно отметить, что такие зооглеи необычайно напоминают скопления клеток миксобактерий.

При получении накопительных культур нитрификаторов на элективных средах не следует переоценивать элективности сред. Органическое вещество, синтезируемое Nitrosomonas и становящееся доступным для других организмов после лизиса клеток Nitrosomonas, может быть прекрасной пищей для различных микроорганизмов, в том числе и для миксобактерий. Не следует также забывать, что среды, лишенные углеродсодержащих органических веществ, могут содержать усвояемые соединения углерода, попадающие из воздуха или реактивов. Только этим может быть объяснено развитие гетеротрофных сопутствующих бактерий на средах для нитрификаторов, наблюдавшееся Мехтиевой [5].

Экспериментальное получение симбиотических культур

Выделив три культуры миксобактерий из накопительных культур Nitrosomonas, относящиеся к роду Sorangium, мы дополнительно взяли из музея культуры других миксобактерий: Myxococcus virescens, Myxococcus rubescens и Sorangium sp. (зеленый), изолированный Прониной [6] и разрушающий клетчатку. Исследования были начаты с посевов миксобактерий на поверхность пластинок кремнекислого геля, пропитанных средой Виноградского и покрытых слоем мела. Регистрация этих посевов через два месяца показала, что ни одна из посеянных миксобактерий не развивалась в этих условиях на поверхности плотной среды, не окисляла аммиака в нитриты и не растворяла слой мела. Таким образом, у нас нет оснований относить миксобактерии к нитрификаторам.

Однако слабое развитие миксобактерий наблюдалось в жидкой среде Виноградского и на поверхности геля, пропитанного этой же средой, но не покрытого слоем мела. В последнем случае через месяц после посева появлялся слабый налет на геле, что лишний раз подтверждает относительность элективности сред для нитрификаторов в том случае, если не принимается специальных мер предосторожности против попадания в них примесей. В дальнейшем была поставлена серия опытов, в которых экспериментально решался вопрос об изменениях, происходящих в культурах Nitrosomonas после подсева к ним чистых культур миксобактерий. Схема опытов была следующей: на чашки с кремнекислым гелем, покрытым слоем мела и пропитанным средой Виноградского, производился посев смешанной культуры Nitrosomonas, состоящей из Nitrosomonas и одного вида сопутствующей бактерии, не относящейся к миксобактериям. После того как возникали зоны растворения мела, на край зоны наносился небольшой комочек чистой культуры миксобактерий. В каждую чашку производился посев только одного вида миксобактерий.

В контрольных чашках появлялись зоны растворения мела, в которые не подсевалась культура миксобактерий. Эти зоны просветления имели характерный вид. На них имелся мелкозернистый равномерный налет клеток Nitrosomonas желтого или коричневатого цвета. Никаких группировок клеток или цист, а тем более плодовых тел не было. В опытных чашках через 12—18 дней после подсева миксобактерий в зонах растворения мела появлялись характерные для данного вида миксобактерий плодовые тела. К культуре Nitrosomonas была подсеяна также культура Sorangium symbioticum, и в этом случае, как в смешанной культуре Nitrosomonas, возникли цисты миксобактерий. О различном внешнем виде

контрольных и опытных посевов дают представление рис. 1 и 2, на которых изображена микроскопическая картина роста Nitrosomonas в отсутствии и в присутствии миксобактерий. Заключительная серия опытов была поставлена с чистой культурой Nitrosomonas, которая менее пригодна для этих экспериментов, так как на поверхности кремнекислого геля со слоем мела она образует только небольшие зоны растворения мела, что объясняется тем, что чистая культура в биохимическом отношении значительно менее активна, чем смешанная.

Рис. 1. Зона растворения мела на пластинке кремнекислого геля. Однородный рост чистой культуры Nitrosomonas в зоне. Зарисовано при малом увеличении микроскопа

Благодаря небольшому количеству образующейся азотистой кислоты зоны растворения мела в чистых культурах очень невелики. В связи с этим нами было уменьшено количество мела, наносимого на пластинки кремнекислого геля, в десять раз. В этих условиях образовывались несколько более крупные зоны. У края этих зон наносился посевной материал, т. е. небольшой комочек, состоящий из клеток миксобактерий. В дальнейшем эти зоны просветления микроскопировались. В результате этих исследований были получены данные, полностью подтверждающие те выводы, к которым мы пришли, работая со смешанной культурой Nitrosomonas. В пятнах, где развивалась чистая культура Nitrosomonas, имелся гомогенный равномерный рост клеток Nitrosomonas. В опытных чашках, где был осуществлен подсев миксобактерий, возникали группировки клеток, цисты и плодовые тела Sorangium овальной или круглой формы.

Рис. 2. Плодовые тела Sorangium, появившиеся после внесения клеток культуры Sorangium в зону, где в результате развития Nitrosomonas произошло растворение мела (зарисовано при малом увеличении микроскопа)

Питаются ли миксобактерии клетками Nitrosomonas?

В ранне опубликованном нашем сообщении [2] было высказано предположение, что организм, описанный Виноградским как Nitrosocystis, представляет собой симбиотическую культуру. Миксобактерии, по нашему предположению, защищали клетки Nitrosomonas от высыхания и других неблагоприятных воздействий внешней среды. В свою очередь миксобактерии могли использовать органическое вещество, синтезируемое Nitrosomonas. После опубликования вышеупомянутой статьи появились сообщения, в которых подтверждалась установленная Солнцевой [8] способность миксобактерий

питаться в качестве единственного источника пищи клетками различных гетеротрофных бактерий. В частности Имшенецким и Кузюриной [3] установлено, что Mухococcus fulvus может развиваться за счет живых клеток Bact. coli и Staphylococcus aureus, которые он сначала убивает, а затем лизирует. Позже были опубликованы другие сообщения, в которых была подтверждена способность различных миксобактерий (Chondromyces, Mухococcus и др.) размножаться в среде, содержащей живые или мертвые клетки различных гетеротрофных бактерий. Далее было доказано, что миксобактерии образуют антибиотические вещества, повидимому, обладающие бактерицидным действием, убивающим живые клетки, которые затем под влиянием протеаз миксобактерий перевариваются. Мы рассматривали данное явление с эволюционной точки зрения, считая такой способ питания не паразитизмом, а проявлением хищничества, но еще в самых примитивных его формах, при которых гибель и лизис клетки-«жертвы» происходит внеклеточно. Все эти новые работы, опубликованные уже после появления нашей статьи о систематическом положении Nitrosocystis, побудили нас пересмотреть вопрос о характере взаимоотношений, существующих в смешанных культурах Nitrosomonas и миксобактерий.

Возникло предположение, что Nitrosomonas, развиваясь вначале, как в лабораторных, так и природных условиях, синтезирует как хемосинтетик органическое вещество, а в дальнейшем клетки Nitrosomonas служат пищей для миксобактерий. Ряд экологических наблюдений говорит о том, что Nitrosomonas может развиваться там, где гетеротрофные микроорганизмы не могут размножаться, в частности это касается поверхности скал островов, на которых после вулканических извержений начинают снова развиваться микроорганизмы, и т. д. Для проверки этого предположения нами были проведены следующие исследования. Чистая культура Nitrosomonas размножалась в бутылях, содержащих жидкую минеральную питательную среду, через которую продувался воздух. Подробное описание методики выращивания нитрификаторов было дано в другом сообщении (Имшенецкий и Рубан [4]). Затем культура профильтровывалась через мембранный фильтр, и клетки наносились в виде штрихов на поверхность кремнекислого геля, не пропитанного средой лишенного мела и находящегося в чашках Петри. Один штрих был контролем, другой штрих, расположенный параллельно и на некотором расстоянии от первого, заражался культурой одного из видов Sorangium, выделенных из смешанных культур Nitrosomonas; в том числе изучалось действие культуры Sorangium symbioticum, изолированной и описанной нами ранее. Все культуры миксобактерий наносились на поверхность геля у одного из концов опытного штриха. Чашки с посевами выдерживались в течение двух месяцев. Однако внесенные клетки миксобактерий не распространялись по штриху клеток Nitrosomonas и не уничтожали штрих (см. рис. 3), съедая постепенно клетки, как это обычно наблюдается в опытах по кормлению миксобактерий клетками гетеротрофных микробов.

В связи с тем, что штрихи, приготовленные из отфильтрованной культуры Nitrosomonas, состояли не только из клеток, но также из солей, главным образом карбонатов и фосфатов, что могло затруднить регистрацию результатов, т. е. констатацию лизиса штриха, — опыты были продолжены после видоизменения методики. На поверхность кремнекислого геля, лишенного «эмали», приготовленной из мела, наносились штрихи клеток Nitrosomonas, выращенных в среде, не содержащей карбонатов, т. е. на среде с фосфатным буфером. Штрихи, приготовленные из этих клеток, состояли преимущественно из клеток, и примесь солей была ничтожна. Однако и в этих опытах миксобактерии не распространялись по штриху, состоящему из клеток Nitrosomonas. Естественно, возникал вопрос, обладают ли представители рода Sorangium, так ча-

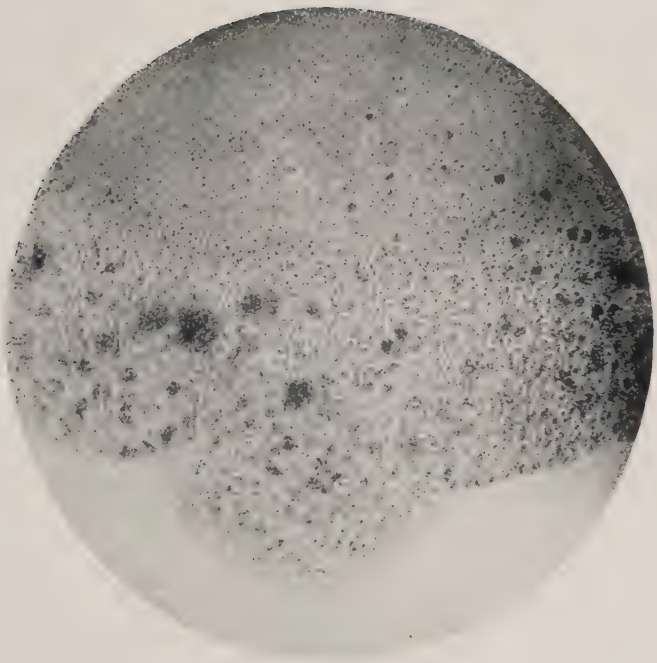


Рис. 4. Рост Sorangium по краю штриха, состоящего из клеток Micrococcus carneus и находящегося на голодном агаре

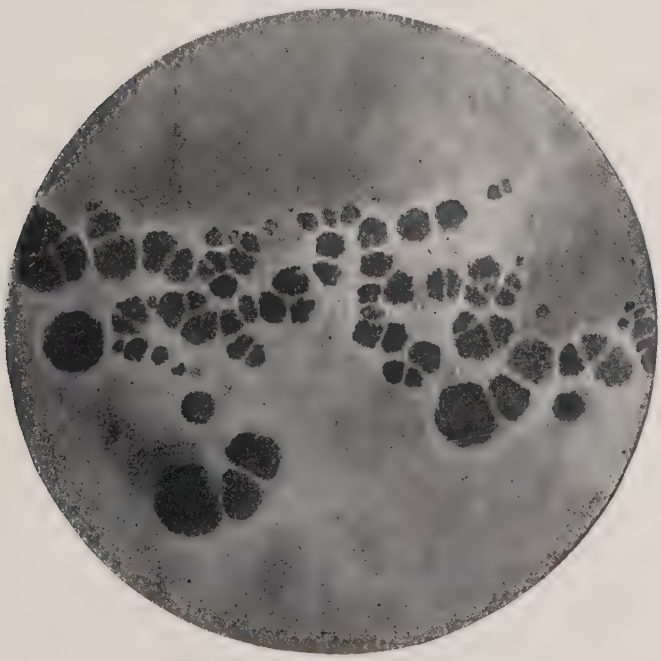


Рис. 5. Отдельные колонии Sorangium, появившиеся у края штриха Mycobacterium citricum, нанесенного на голодный агар

сто присутствующие в элективных культурах Nitrosomonas, способностью лизировать клетки других бактерий. Для выяснения этого вопроса на «голодный» агар были нанесены штрихи из клеток Micrococcus carneus, Mycobacterium luteum, Myc. citreum Staphylococcus aureus, Sarcina lutea, Bact. coli. Затем на концы штрихов были нанесены в виде комочков культуры четырех видов Sorangium. Однако ни один из них не распространялся по штриху и не лизировал его. Это не значит, что миксобактерии не развивались — они продвигались по краю штриха и давали слабый рост на голодном агаре за счет органических веществ, диф-

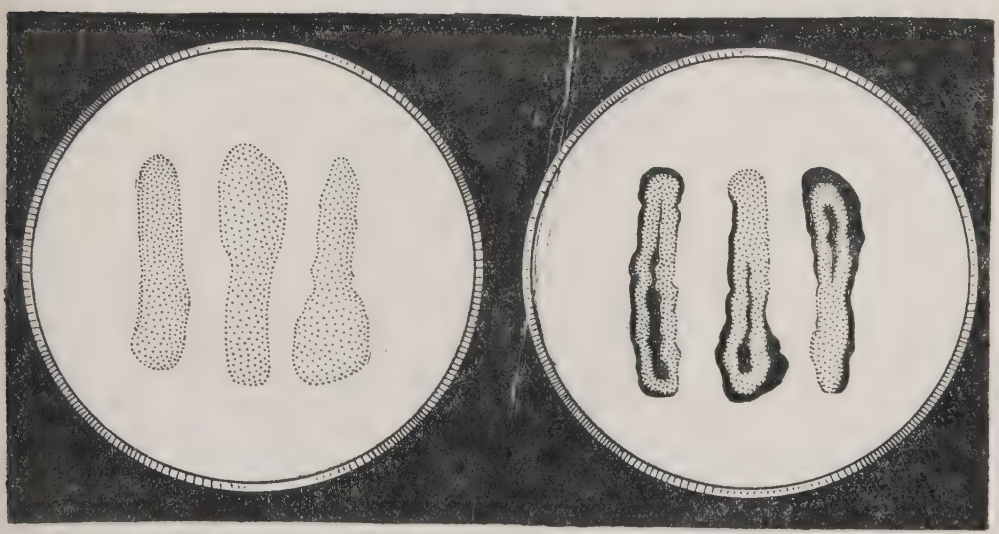


Рис. 3. Штрихи, состоящие из клеток Nitrosomonas и нанесенные на поверхность кремнекислого геля. Слева — непосредственно после нанесения клеток Nitrosomonas; справа— через 15 дней после подсева культуры миксобактерии

фундирующих из штриха в агар. Представление о таком росте дают рис. 4 и 5, на которых виден рост миксобактерий у края штриха. Однако «растворения» самого штриха, столь характерного в опытах по выращиванию «хищных» миксобактерий на клетках других бактерий, не было.

Таким образом, опыты, проведенные при помощи различных методик, дали один и тот же результат. Миксобактерии, обнаруживаемые в смешанных культурах Nitrosomonas, не питаются клетками нитрификаторов. Следовательно, миксобактерий нельзя рассматривать как организмы, существующие за счет клеток хемосинтетиков. В связи с этим возник вопрос, могут ли клетки Nitrosomonas быть пищей для других миксобактерий. В нашем распоряжении были две культуры Myxococcus virescens, которые убивали и растворяли клетки Bact. coli, Staph. aureus и Sarcina lutea. Были произведены посевы этих культур на штрихи, состоящие из клеток Nitrosomonas, нанесенных на поверхность кремнекислого геля. В контрольных чашках посев миксобактерий производился на штрихи, состоящие из клеток Bact. coli. При этом оказалось, что миксококки довольно быстро лизируют клетки кишечной палочки, но совершенно не лизируют клетки Nitrosomonas. Таким образом, необходимо придти к выводу, что среди изучавшихся нами миксобактерий нет форм, способных утилизировать в качестве единственного источника пищи клетки нитрифицирующих бактерий. Повидимому, миксобактерии играют такую же роль, как и другие бактерии-симбионты, встречающиеся в смешанных культурах нитрификаторов. Они также оказывают благо-

приятное влияние, обеспечивая высокую активность и лучшую сохранность культур нитрификаторов. В этом легко убедиться, нанеся штрихи, состоящие из клеток Nitrosomonas, на пластинки кремнекислого геля, пропитанные средой для нитрификаторов и покрытые мелом, а затем зараженные миксобактериями из рода Sorangium. Вокруг штрихов, содержащих миксобактерии, гораздо раньше появляются зоны растворения мела, чем в контрольных чашках со штрихами из клеток нитрификаторов, но без миксобактерий. Сказанное хорошо иллюстрирует рис. 3. Что касается механизма благоприятного действия спутников на Nitrosomonas, то это задача дальнейших исследований.

Выводы

1. Единственным возбудителем первой фазы нитрификации следует считать Nitrosomonas. Другие микроорганизмы, описанные как нитрификаторы (Nitrosocystis, Nitrosospira, Nitrosogloea и др.), представляют собой бактерий, сопутствующих Nitrosomonas.

2. В накопительных культурах Nitrosomonas, полученных как на жидких, так и на плотных питательных средах, в качестве бактерий, сопутствующих Nitrosomonas, особено часто встречаются миксобактерии.

3. Клетки сопутствующих миксобактерий обладают способностью сокращаться с образованием микроцист. Это составляет характерную особенность жизненного цикла миксобактерий. Такие коккобациллярные элементы по своей морфологии неотличимы от клеток Nitrosomonas.

4. Присутствие миксобактерий в культуре Nitrosomonas, как правило, не может быть доказано посевами культуры в мясопептонный бульон, так как многие миксобактерии не дают роста на этой среде.

5. В качестве бактерий-спутников наиболее часто встречаются представители рода Sorangium. Эти миксобактерии образуют как на плотных, так и на жидких средах округлые плодовые тела, содержащие мелкие микроцисты. В прошлом такие плодовые тела ошибочно были описаны как зооглейная стадия развития Nitrosomonas.

6. Некоторые миксобактерии обладают способностью питаться в качестве единственного источника углерода и азота клетками других бактерий. Соответствующие опыты выяснили, что миксобактерии, сопутствующие Nitrosomonas, не могут лизировать клетки Nitrosomonas, т. е. последние не могут служить для них источником пищи. Таким образом, миксобактерии не являются «хищниками» по отношению к Nitrosomonas. Смешанные культуры, состоящие из миксобактерий и Nitrosomonas, более активны, дольше сохраняются без ослабления нитрифицирующей активности, что, повидимому, связано с благоприятным влиянием симбионта на развитие Nitrosomonas, но механизм этого влияния остается пока невыясненным.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 23. X. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградский С. Микробиология почвы. Москва, 1952.
2. Имшенецкий А. Нитрифицирующие бактерии и миксобактерии. Микробиология. XIV, 177, 1945.
3. Имшенецкий А. и Кузюрина Л. О бактериотрофных микроорганизмах (к эволюции хищничества и паразитизма). Микробиология, XX, 3, 1951
4. Имшенецкий А. и Рубан Е. Бесклеточная нитрификация. 1. Выращивание культур Nitrosomonas и получение автолизата клеток. Микробиология, XXIII, 271, 1954.
5. Мехтиева В. К вопросу о физиологии нитрифицирующих бактерий и их спутников (дисс.). Б-ка ОБН, 1954.

6. Пронина И. Целлюлозные миксобактерии в бумажном производстве (дисс.). Б-ка ОБН, 1950.
7. Рубан Е. О проверке чистых культур Nitrosomonas. Микробиология, XXIV, 22, 1955.
8. Солнцева Л. И. О лизисе фитопатогенных бактерий, вызываемом Myxobacteriales. Микробиология, VIII, 6, 1939.
9. Grace J. Myxobacteria mistaken for nitrifying bacteria. Nature, 4264, 117, 1951.
10. Meiklejohn J. Myxobacteria mistaken for nitrifying bacteria. Nature, 4274, 561, 1951.
11. Romell L. A. Nitrosocystis from american forest soil. Svensk. Bot. Tidskr., 26, 303, 1932.
12. Winogradsky H. Contribution a l'étude de la microflore nitrificatrice des boues activées de Paris. Ann. Inst. Past., 58, 326, 1937.

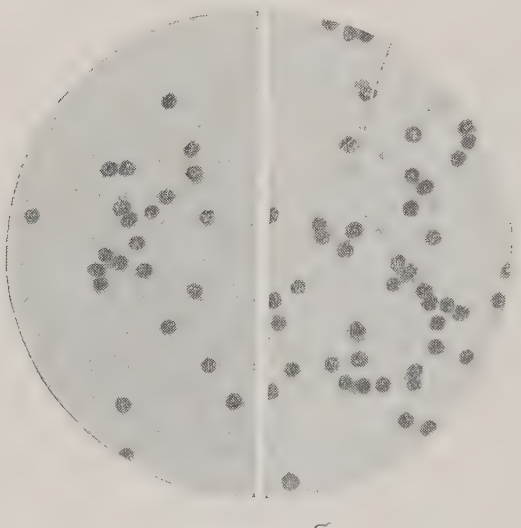
О ПРОВЕРКЕ ЧИСТОТЫ КУЛЬТУР NITROSOMONAS

Е. Л. Рубан

Получение чистых культур Nitrosomonas и проверка их чистоты имеет не только методическое, но и большое принципиальное значение, особенно в настоящее время, когда ставится под сомнение хемотрофность нитрификаторов [4].

При проверке чистоты культур Nitrosomonas многие авторы ограничивались посевами на мясо-пептонный бульон и микроскопированием [5, 7, 8, 9, 10, 12].

Критерием чистоты культуры Nitrosomonas принимались данные Виноградского. «Для испытания чистоты культуры заражают щелочной мясной бульон несколькими каплями среды, в которой окончилось окисление нитритов. Зараженные пробирки выдерживаются в термостате не менее десяти дней. Если по истечении этого срока бульон останется неизмененным, культуру можно считать чистой. В большинстве случаев этот контроль оказывается надежным, но все же не следует ему слепо доверяться» [1].



а *б*

Рис. 1. *а* — чистая культура Nitrosomonas, *б* — смешанная культура Nitrosomonas и Mycobacterium rubrum. Ув. 2000х

Изучение сопутствующей микрофлоры накопительных культур Nitrosomonas показало, что она может быть достаточно пестрой по своему составу и примесь банальных гетеротрофных форм быстро обнаруживается при посеве на мясо-пептонный бульон.

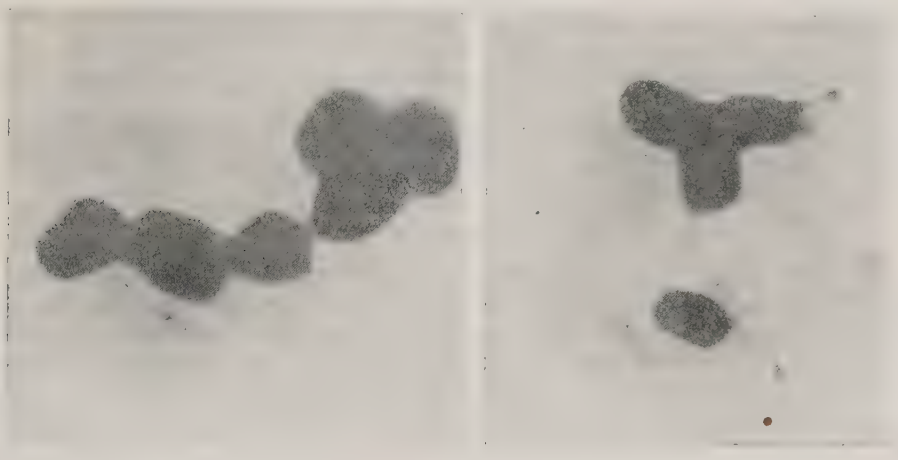
Однако после долговременного культивирования и многократных пересевов накопительных культур банальные формы отсеиваются и в культурах устанавливается устойчивая ассоциация нитрификаторов и олигокарбофильных видов, сопутствующих Nitrosomonas; обычно это представители родов Mycobacterium, Pseudomonas или Sorangium.

Смешанная культура Nitrosomonas может содержать, кроме нитрификаторов, только одного из упомянутых выше микроорганизмов.

Некоторые виды Mycobacterium и Sorangium плохо или совсем не развиваются на мясо-пептонных средах, и это обстоятельство может являться причиной ошибки [1, 3, 6, 11]. В связи с этим необходимо производить посевы не только на мясо-пептонные среды, но и на сусловые, картофельные, глюкозо-аммиачные, содержащие клетчатку среды и выдерживать их не менее 10—12 дней.

Кроме того, некоторые микроорганизмы, сопутствующие Nitrosomonas, морфологически могут быть весьма сходными с ним; это заставляет осторожно относиться и к микроскопическому контролю культур.

Клетки Mycobacterium при их расчленении на коккоподобные формы и молодые микроцисты Sorangium при обычном микроскопировании почти не удается отличить от клеток Nitrosomonas (рис. 1).



а *б*

Рис. 2. *а* — клетки Mycobacterium rubrum, *б* — клетки Nitrosomonas europeae. Ув. 12000х

При фотографировании в электронном микроскопе десятидневных культур Nitrosomonas и Mycobacterium, выращенных на среде Виноградского, неуловимая разница в размерах клеток и в их структуре становится более резкой. Клетки Nitrosomonas несколько мельче коккоподобных форм Mycobacterium, обладают более плотной протоплазмой и резкими контурами, а также имеют жгутик (рис. 2).

Накапливающиеся в культурах Nitrosomonas соли азотистой кислоты оказывают угнетающее действие на сопутствующие микроорганизмы, и посев на мясо-пептонные и другие органические среды из смешанных культур Nitrosomonas может не дать развития, несмотря на присутствие гетеротрофных микроорганизмов.

Из накопительных культур Nitrosomonas нами были выделены чистые культуры Mycobacterium и Sorangium и испытано их отношение к присутствию иона NO_2 в среде (табл. 1).

Таблица 1

Количество NO_2 в среде, полностью подавляющее развитие спутников Nitrosomonas (NO_2 в мг/л)

Культуры	Среды						
	МПБ	МПА	сусло	сусло-агар	картоф. крошка	картоф. агар	среда Виноградского
Mycobacterium rubrum . . .	780	780	65	65	780	780	160
Sorangium sp. . .	520	520	65	65	520	520	80

Как можно видеть из приводимых данных, количество NO_2 в средах, благоприятных для развития гетеротрофных микроорганизмов, должно быть значительным для того, чтобы полностью подавить их развитие; на среде же Виноградского подавление развития достигается меньшими количествами, повидимому, в связи с неблагоприятными условиями минеральной среды.

При работе с чистыми культурами Nitrosomonas проверка их на отсутствие посторонних микроорганизмов должна проводиться многократно и систематически, так как чистые культуры быстро загрязняются. Симптоматичным в этом случае является резкое повышение интенсивности нитрификации. Так, например, при работе с чистыми культурами № 64 и № 219 м нами было замечено резкое повышение количества нитритов в культуральной жидкости (с 20 до 436 мг/л) и при исследовании было установлено присутствие Pseudomonas fluorescens.

Следовательно, однократная проверка чистоты культуры непосредственно после ее выделения недостаточна и культуры должны проверяться перед каждым опытом.

Выводы

1. Обычно применяемая проверка чистоты культуры Nitrosomonas посевами на мясо-пептонный бульон является недостаточной, так как некоторые сопутствующие микроорганизмы на этой среде не развиваются.
2. Присутствие больших количеств солей азотистой кислоты в среде снижает жизнеспособность спутников Nitrosomonas, поэтому проверку чистоты культур нужно производить раньше, чем количество нитритов в среде достигло максимума (160 мг/л).
3. Однотипная морфология клеток, обнаруживаемых при микроскопировании препаратов, недостаточна для установления чистоты культуры, так как некоторые спутники морфологически не отличимы от Nitrosomonas.
4. Проверка чистоты культуры должна проводиться различными методами и многократно.

Институт микробиологии
Академии наук СССР.
Москва

Поступило 15.V.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградский С. Н. Микробиология почвы. 1951.
2. Имшенецкий А. А. К систематике нитрифицирующих бактерий. ДАН СССР, 47, № 3, 1945.
3. Имшенецкий А. А. Нитрифицирующие бактерии и миксобактерии. Микробиология, XIV, вып. 3, 1945.
4. Калиненко В. О. Органическое питание Nitrosomonas. ДАН СССР, 92, № 1, 1953.
5. Buswell A., Shiota T., Lawrence N., van Meter. I. Laboratory Studies on the kinetics of the growth of Nitrosomonas with relation to the nitrification phase of the BOD test. Appl. Microbiol., 2, № 1, 1954.
6. Grace I. Myxobacteria mistaken for nitrifying bacteria. Nature, 168, № 4264, 1951.
7. Hanks I. and Waintraub R. The pure culture isolation of ammonia-oxidasing bacteria. J. Bact., 32, № 6.
8. Hofman T. and Lees H. The respiration of Nitrosomonas. Biochem. J., 52, № 4, 1952.
9. Jensen H. En Stamme of Nitrosomonas europaea fra staldgodning. Tidsskr. Planteavl., 54, 62, 1950.
10. Lees H. Isolation of the nitrifying organisms from soil. Nature, 167, № 4244, 1951.
11. Meiklejohn I. Myxobacteria mistaken for nitrifying bacteria. Nature, 168, № 4274, 1951.
12. Meiklejohn I. The isolation of Nitrosomonas europeae in pure culture. J. Gen. Microbiol., 4, № 2, 1950.

ВЛИЯНИЕ НИТРАТОВ И НИТРИТОВ НА ГАЗООБРАЗУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ BACT. COLI И ВЫХОДЫ ДРУГИХ ПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ

М. В. Федоров и *Г. К. Бондаренко*

Кишечная палочка (Bact. coli) относится к группе факультативно-анаэробных микроорганизмов. При наличии в среде молекулярного кислорода она вызывает полное окисление энергетического материала до углекислоты и воды, а при отсутствии молекулярного кислорода расщепляет некоторые углеводы и ряд других соединений с образованием молочной, янтарной и уксусной кислот, а также этилового спирта, углекислоты и водорода. Последний тип расщепления получил название нетипичного или гетероферментативного молочнокислого брожения (Стефенсон [2]). Образующиеся при этом брожении газы составляют около 20% от веса сброженного сахара и, естественно, занимают большой объем. Столь значительное разнообразие продуктов сбраживания энергетического материала указывает на большое разнообразие и ферментных систем, участвующих в этом процессе.

Химизм вызываемого этой бактерией брожения весьма близок к молочнокислому и спиртовому и связан с прохождением ряда промежуточных этапов. Повидимому, все этапы процесса, приводящие к образованию пировиноградной кислоты, идут в этом брожении однотипно со спиртовым и только дальнейшие превращения этой кислоты носят специфический характер. Судя по имеющимся в литературе данным, пировиноградная кислота в культурах этой бактерии подвергается сначала декарбоксилированию и превращается в уксусный альдегид и углекислоту. Уксусный же альдегид, в свою очередь, подвергается дисмутации и дает этиловый спирт и уксусную кислоту. Наряду с этим некоторая часть пировиноградной кислоты взаимодействует, возможно, с углекислотой и превращается сначала в щавелево-уксусную кислоту, которая в дальнейшем восстанавливается в янтарную кислоту. Как было показано Шапошниковым [5], характер брожения заметно меняется на разных стадиях развития культуры бактерий. В первый период обычно преобладают продукты распада пировиноградной кислоты — продукты ее восстановления. Совершенно естественно, что изменение окислительно-восстановительных условий в среде сильнейшим образом сказывается на качестве и разнообразии продуктов брожения. Введение в нее посторонних акцепторов водорода также резко меняет ход брожения, сокращая, в частности, выходы молекулярного водорода.

Весьма сильное влияние оказывают на ход этого брожения нитраты, которые в культурах кишечной палочки восстанавливаются (Stiekland [7]) или до нитритов (при щелочной реакции), или до аммиака (при кислой реакции). В том и в другом случае нитраты служат не только акцепторами водорода, но могут инактивировать и отдельные ферментные системы. В результате приостанавливается выделение газов и частично меняется ход брожения. Об этом можно судить по следующим данным: Шварцу и Фишеру (Schwarz u. Fischer [6]) удалось показать, что замена селитры метиленовой синью не дает такого же эффекта, хотя метиленовая синь и акцептирует водород. В присутствии этого акцептора газообразование в культурах этой бактерии происходит почти столь же ин-

тенсивно, как и без нее, что указывает на другую природу воздействия нитратов. Помимо акцептации водорода, они влияют на активность отдельных ферментов, хотя характер их влияния и остается до сих пор мало изученным. Учитывая это обстоятельство, мы и предприняли нижеописываемые исследования с целью получить новые данные для разъяснения этого явления, имеющего существенное научное и практическое значение.

Наши исследования имели целью определить качественный и количественный состав продуктов сбраживания углеводов при анаэробных условиях развития Bact. coli и при наличии в среде нитратов или нитритов.

Методика наших исследований заключалась в следующем. В литровые колбы, содержащие 1 л стерильной среды Булира, вносились стерильные растворы нитрата или нитрита, и производилось заражение культурой Bact. coli (штаммы $B_ч$ и 36). После этого колбы соединялись с газоприемниками, заполненными насыщенным раствором хлористого натрия, и ставились в термостат с температурой 37°. По истечении определенного срока культивирования газоприемники отъединялись от колб и производилось определение объема образовавшегося газа и его состава. Параллельно в питательной среде производилось определение неиспользованного сахара и накопившихся кислот и спирта. Газ анализировался в специальном приборе для газового анализа, остаточный сахар определялся по Бертрану, молочная кислота — по Инихову, янтарная кислота — по Кунцу, летучие кислоты — по Дюкло, а этиловый спирт — по Никлю.

Анализы показали, что при культивировании Bact. coli на среде Булира без нитратов или же нитритов образуются молочная, янтарная и уксусная кислоты, этиловый спирт, углекислота и водород. Если же в среду Булира добавлялось 0,03% азотнокислого натрия (0,0035 моля) или же 0,024% (0,0035 моля) азотистокислого натрия, то состав продуктов расщепления лактозы сильно менялся. В этом случае наблюдалось образование молочной, янтарной, уксусной и муравьиной кислот, а накопления этилового спирта и газов не происходило. Количественное соотношение между различными продуктами сбраживания сахара при разных условиях культуры Bact. coli приводится в табл. 1.

Таблица 1

Количественные соотношения между продуктами сбраживания лактозы Bact. coli (в процентах от сброженного сахара) при наличии в среде нитратов или нитритов и в их отсутствии (средние данные из двух параллельных опытов)

Продукты сбраживания лактозы	Контроль без нитратов		+0,03% $NaNO_3$			+0,024% $NaNO_2$		
	Штамм 36	Штамм $B_ч$	Штамм 36	Штамм 36	Штамм $B_ч$	Штамм 36	Штамм 36	Штамм $B_ч$
Молочная кислота	40,0	29,5	32,7	53,1	26,0	42,6	28,5	41,0
Янтарная „	0,0	1,4	16,4	3,3	18,7	5,1	9,5	16,0
Уксусная „	21,3	28,6	19,7	18,7	21,7	28,3	23,8	15,3
Муравьиная кислота	0,0	0,0	19,7	21,9	25,1	17,4	23,8	23,0
Этиловый спирт	11,6	14,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Углекислота	18,3	19,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Водород	0,4	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Сумма продуктов	86,6	93,7	88,7	97,0	91,5	93,4	85,6	95,3

Из этих данных следует, что в присутствии нитратов или же нитритов довольно резко меняется характер брожения. В том случае, когда происходит образование газообразных продуктов (в среде без нитратов) янтарная и муравьиная кислоты практически не накапливаются или же накапливаются в весьма незначительном количестве. Когда же брожение не сопровождается образованием газов (в среде с нитратами или нитритами), муравьиная и янтарная кислоты накапливаются в больших коли-

чествах. Между газами и этими кислотами выявляется определенная зависимость. Углекислота и водород, повидимому, образуются в ходе брожения за счет расщепления муравьиной кислоты. Об этом говорит не только отсутствие муравьиной кислоты при усиленном образовании газов, но и количественные показатели выхода этих продуктов. При нормальных условиях брожения газы составляют около 20% от сброженного сахара. В среде же с нитратами, где газы совсем не образуются, выходы муравьиной кислоты также составляют 19—25% от сброженного сахара. Учитывая некоторую неточность определения этой кислоты, следует признать, что при наличии нитратов или же нитритов в среде вместо углекислоты и водорода действительно накапливается муравьиная кислота, из которой в нормальных условиях брожения и образуются газы. А если основная масса газов образуется за счет разложения муравьиной кислоты, то, очевидно, и образование уксусной кислоты связано не с дисмутацией уксусного альдегида, а с окислительным расщеплением пировиноградной кислоты в соответствии со следующим уравнением:

$$CH_3COCOOH + H_2O \rightarrow CH_3COOH + HCOOH.$$

Вероятность такого пути образования уксусной кислоты подтверждается двумя фактами: 1) отсутствием в среде, где идет усиленное накопление уксусной и муравьиной кислот, этилового спирта, который мог бы образоваться за счет дисмутации уксусного альдегида, и 2) почти эквимолекулярным выходом уксусной и муравьиной кислот. Приведенные выше данные говорят в пользу именно этого пути образования уксусной и муравьиной кислот. А если это так, то следует, далее, сделать вывод, что нитраты и нитриты инактивируют фермент карбоксилазу и не дают ему возможности расщеплять пировиноградную кислоту на уксусный альдегид и углекислоту. Такая возможность блокирования этого фермента вполне реальна, так как активной группировкой в составе простетической группы карбоксилазы является, как известно, аминная группа, легко взаимодействующая с азотистой кислотой, с образованием молекулярного азота. Такое взаимодействие особенно легко осуществляется в кислой среде, а в этих культурах среда была как раз кислой. Этим и можно объяснить потерю активности карбоксилазой. Так как инактивация этого фермента одинаково легко вызывается нитратами и нитритами, то следует, далее, предполагать, что нитраты сначала восстанавливаются в нитриты, а затем уже взаимодействуют с карбоксилазой.

Приведенные данные показывают, что блокировка отдельных структурных групп фермента возможна не только в растворах очищенных препаратов ферментов, но и в составе живых клеток бактерий, выполняющих все процессы жизнедеятельности, приводящие к синтезу нового клеточного вещества и к росту и размножению организма. Возможность такой блокировки до настоящего времени была доказана Федоровым [4] только для культур азотобактера. При помощи метода блокировки им были установлены многие закономерности, связанные с расшифровкой химизма фиксации атмосферного азота этим микроорганизмом. Теперь к этому случаю можно добавить второй: аминная группа фермента карбоксилазы может быть блокирована нитритами на растущих и вполне жизнедеятельных клетках Bact. coli. Этот факт не только расширяет сферу применения метода блокировки, но и указывает на важное значение этого метода для расшифровки химической природы отдельных ферментов. Кроме того, он дает дополнительное доказательство положения, что в составе фермента карбоксилазы имеется аминная группа, участвующая в катализе. Наличие большого количества аминогрупп в составе белков протоплазмы живой клетки делает, на первый взгляд, мало вероятной возможность, что азотистая кислота будет специфично реагировать именно с аминогруппой фермента карбоксилазы и выведет ее из сферы действия, не затрагивая или же мало затрагивая другие аминогруппы.

А между тем приведенные выше данные показывают, что азотистая кислота действительно не затрагивает аминогрупп белковых веществ, так как бактериальные клетки в ее присутствии продолжают нормально расти и размножаться, а карбоксилаза остается инактивированной. На этом основании следует предполагать, что простетические группы ферментов обладают высокой реактивной способностью, а белковые вещества протоплазмы более инертны.

Совсем иначе идет брожение в культурах Bact. coli, не содержащих нитратов или нитритов. Здесь нет соединений, блокирующих аминогруппу карбоксилазы, и она активно участвует в превращениях пировиноградной кислоты. Последняя под влиянием этого фермента расщепляется на углекислоту и уксусный альдегид, который и превращается далее в этиловый спирт и уксусную кислоту в процессе дисмутации. Водород же, мобилизованный дегидразами из гидрата фосфорноглицеринового альдегида, видимо, превращается в молекулярную форму из-за отсутствия подходящих для него акцепторов. Поэтому при нормальных условиях брожения в культурах Bact. coli и образуются углекислый газ, водород, уксусная кислота и этиловый спирт. Муравьиная же кислота в этих условиях совсем не накапливается. Такого рода различия в ходе брожения в присутствии нитратов или же нитритов обуславливаются не изменениями окислительно-восстановительных условий в среде, а связаны в первую очередь с инактивацией фермента карбоксилазы. Эту инактивацию вызывает азотистая кислота, разрушающая ее аминную группу.

Второй эффект от воздействия нитратов и нитритов связан с повышенным образованием янтарной кислоты. Так как при наличии этих соединений в среде углекислота не образуется, то она, видимо, не может и фиксироваться на пировиноградной кислоте с превращением ее в щавелево-уксусную, которая далее могла бы восстанавливаться в янтарную кислоту. В этих условиях брожения янтарная кислота образуется, очевидно, не из пировиноградной кислоты, а каким-то другим путем. Этот другой путь может быть связан с дегидрированием уксусной кислоты, сопровождающимся образованием янтарной. Такой путь ее образования был доказан Федоровым [3] для культур Mucor stolonifer. Повидимому, и здесь образование янтарной кислоты происходило аналогичным путем, а не через присоединение угольной кислоты к пировиноградной с последующим восстановлением ее в янтарную кислоту.

Поскольку все вышеизложенные соображения основываются на аналитическом материале описанных опытов, необходимо было установить, что в них был проведен достаточно полный учет всех продуктов брожения. Для выявления, насколько полно были определены продукты брожения в ходе наших анализов, мы произвели расчет баланса углерода в культурах Bact. coli, развивавшихся на средах, содержащих и не содержащих нитрат или же нитрит. Результаты этого расчета приводятся в табл. 2.

Количество углерода, содержащееся в продуктах брожения, в большинстве случаев оказалось приближающимся к 100% углерода израсходованного сахара. Только в среде без внесения нитратов или нитритов оно держится на уровне 90% от сброженного сахара и указывает на то, что в этих условиях брожения могли образоваться еще какие-то продукты, не учитываемые нашими анализами, но количество их было небольшим и поэтому не может изменить основных выводов. В среде же с нитратами и нитритами количество углерода в продуктах брожения в большинстве случаев оказалось близким к 100% и указывает на достаточно полный учет всех продуктов брожения. Поэтому полученные в ходе этих опытов данные позволяют сделать обоснованный вывод, что в присутствии этих солей в растворе действительно происходит инактивирование карбоксилазы и прекращение декарбоксилирования пировиноградной

Таблица 2

Баланс углерода в культурах Bact. coli при различных условиях опыта (в миллиграммах углерода)

Продукты сбраживания лактозы	Контроль без нитратов		+0,03% $NaNO_3$			+0,024% $NaNO_3$		
	штамм 36	штамм $B_ч$	штамм 36	штамм 36	штамм $B_ч$	штамм 36	штамм 36	штамм $B_ч$
Молочная кислота	96	42	40	68	24	39,2	24	32
Уксусная „	51,2	41,2	22	28	20	31	20	12
Муравьиная „	0,0	0,0	28,7	33,4	27,7	16	23,9	21
Янтарная „	0,0	2	20,3	4,3	17,3	5,3	9	12,6
Этиловый спирт	30,0	21,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Углекислота	29,0	25,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Всего	206,2	132	111,0	143,7	89,0	91,5	76,9	77,6
Углерод сброженного сахара	240	147	122	137	92	92	84	78
% использованного углерода сахара	86,0	89,8	90,9	100,4	96,7	99,5	91,5	99,4

кислоты. В результате этого углекислота и уксусный альдегид перестают образовываться. А если уксусного альдегида в среде нет, то нет основы и для образования этилового спирта. Поэтому в среде с нитратами этиловый спирт и не накапливается, а уксусная и муравьиная кислоты — обильно накапливаются за счет расщепления пировиноградной кислоты по типу, близкому к окислительному декарбоксилированию. Кроме этих продуктов, в заметных количествах накапливается еще и янтарная кислота, но ее образование, повидимому, не связано с карбоксилированием пировиноградной кислоты.

Характер превращений мобилизованного дегидразами водорода, к сожалению, нам не удалось полностью установить. В вариантах опыта с нитратами и нитритами он совсем не выделялся в молекулярной форме. Очевидно, весь водород сброженного сахара оставался в составе продуктов брожения. Только в варианте без внесения нитратов он выделялся в молекулярной форме в значительных количествах, но его образование и в этом случае шло весьма неравномерно. В первые 20 часов опыта соотношение $CO_2 : H_2$ было равно 1 : 0,5, а через 80 часов от начала брожения (конец опыта) смещалось до 1 : 4,5. В первые же 8 часов наблюдалось выделение только одной углекислоты. Водород в составе газа совсем отсутствовал. Из этого можно сделать вывод, что на последних этапах брожения он образуется не за счет расщепления муравьиной кислоты, а каким-то другим путем. Но каков этот другой путь, пока еще остается не ясным и требует дальнейших, более детальных исследований.

Параллельное определение через краткие промежутки времени объема и состава газообразных продуктов, а также кислот в среде показало, что при изменении соотношения между углекислотой и водородом наблюдаются значительные изменения и в соотношении между уксусной и янтарной кислотами. Так, например, в первые периоды брожения, когда соотношение $CO_2 : H_2 = 5 : 1{,}5$ или же 1 : 0,5, в среде обнаруживается много уксусной кислоты, а в более поздние периоды культуры, когда $CO_2 : H_2 = 1 : 4$, в среде появляется в значительных количествах и янтарная кислота. Каков характер процессов, приводящих к такого рода соотношениям,— пока также остается неясным.

При внесении в среду малых доз нитратов или же нитритов газы в небольшом количестве образуются, но соотношение между ними изме-

няется в сторону понижения выходов водорода. Повидимому, при этих условиях выращивания Bact. coli часть водорода акцептируется на нитратах или же нитритах и восстанавливает их до аммиака. Однако эта акцептация все же остается неполной, так как частичная инактивация карбоксилазы нитритами продолжается, хотя и менее интенсивно. Любопытно также отметить, что в первые часы развития Bact. coli в среде, содержащей нитраты или нитриты, pH понижается быстрее, чем в контроле. Повидимому, в это время накапливаются сильнее диссоциирующие уксусная и муравьиная кислоты.

Все вышеизложенное показывает, что нитраты и нитриты при определенной концентрации полностью подавляют газообразование в культурах Bact. coli, и так как они довольно быстро исчезают из среды, превращаясь в конечном итоге в восстановленные и безвредные продукты, то они могут быть использованы в сыроваренном производстве для предотвращения вспучивания некоторых типов сыра на первых этапах их созревания.

Выводы

1. В присутствии 0,03% (0,0035 моля) $NaNO_3$ или 0,024% $NaNO_2$ в среде Bact. coli в ходе вызываемого брожения не образует газообразных продуктов. В этих условиях наблюдается наряду с молочной кислотой усиленное накопление в среде уксусной и муравьиной кислот.

2. Нитраты и нитриты инактивируют фермент карбоксилазу, разрушая его аминную группу и тем самым прекращают декарбоксилирование пировиноградной кислоты. В силу этого уксусной альдегид не образуется, и поэтому в среде, содержащей эти соли, не происходит накопления этилового спирта. При наличии этих солей в растворе пировиноградная кислота расщепляется на уксусную и муравьиную кислоты по типу, близкому к окислительному декарбоксилированию, но без образования углекислоты и водорода.

3. На этом основании можно считать установленным, что аминогруппа карбоксилазы непосредственно участвует в расщеплении пировиноградной кислоты.

4. Отсутствие газообразования в культурах Bact. coli при сравнительно малых дозах нитратов или нитритов в среде позволяет использовать эти соли для подавления вспучивания в начальных стадиях созревания голландского сыра, вызываемого кишечной палочкой. Эта возможность вполне реальна, так как нитраты и нитриты очень быстро восстанавливаются и исчезают из среды, теряя свои токсические свойства.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева

Получено 19. IX. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Войткевич А. Ф. Роль селитры как фактора, подавляющего газообразование в сыре. Микробиология, III, вып. 4, 1932.
2. Стефенсон М. Метаболизм бактерий. ИЛ, 1951.
3. Федоров М. В. Образование фумаровой и янтарной кислот в культурах Mucor stolonifer. Тр. Тимирязевского ин-та, 1929.
4. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. 1952.
5. Шапошников В. Н. Техническая микробиология. 1949.
6. Schwarz G. u. Fischer O. Beiträge zur Frage der Käseblähung. Forr.-u. Lebensmittel-Forschung, 1, 1938.
7. Stiekland L. The reduction of nitrates by Bact. coli. Bioch. J., 23, 87, 1931.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ КУЛЬТУР SCENEDESMUS QUADRICAUDA И DAPHNIA LONGISPINA, ПОМЕЧЕННЫХ РАДИОАКТИВНЫМ ФОСФОРОМ

Н. Б. Заварзина

При внесении зеленых удобрений в водоемах Новгородской области Мануйлова [1] наблюдала около куч скошенной растительности усиленное скопление дафний, происходящее, по мнению автора, за счет миграции их из отдаленных частей водоема.

Миграции дафний в водоеме казалось возможным изучить путем пометки их радиоактивным фосфором P^{32}. В связи с этим нами был разработан метод введения P^{32} в организм Daphnia longispina, как одного из представителей зоопланктона.

Наиболее простым казался метод кормления дафний планктонными водорослями, помеченными P^{32}. Предпосылкой к этому являлся ряд работ американских авторов.

Так, Мак Картеру и др. (Mc Carter [5]) благодаря применению меченого фосфора удалось выяснить некоторые закономерности в распределении фосфора в водоемах.

Хейс и Коффин (Hayes and Coffin [3]) обнаружили меченый фосфор через 2 часа после внесения его в озеро в зоопланктоне, губках и сфагнуме, т. е. в организмах, способных прямо или косвенно усваивать неорганический фосфор. Для постановки опыта авторы использовали озеро площадью в 4 га и максимальной глубиной 7 м. Раствор, содержащий 100 мС радиоактивного фосфора, был внесен в поверхностный слой воды в центре озера. Анализы показали, что через месяц активность воды снизилась до 10% первоначальной величины. При этом было обнаружено, что температурный скачок не является барьером, а только несколько замедляет проникновение фосфора в глубину. В клюкве и других высших растениях, окружающих и населяющих озеро, фосфор был обнаружен через две недели после его внесения.

При исследовании некоторых рыб и других животных, населяющих водоем, меченый фосфор был найден в их костях только через 40 дней.

Причиной более медленного проникновения фосфора в высшие организмы является то, что они получают P^{32} через питание планктоном, а не непосредственно из воды. Интересно, что некоторые живые организмы имели активность, в 40 000 раз превышающую активность окружающей воды.

Последующие работы этой же группы авторов [2, 4, 5] показали скорость и пути распространения меченого фосфора в озерах в случае внесения его — 1) в растворенном виде на поверхность воды и 2) в виде сухого аммонийного фосфата.

На основании своих наблюдений авторы установили, что обмен между водой и дном идет медленнее, чем между водой и живыми существами. На глубинах около 6 м фосфор удерживается в воде дольше благодаря меньшему распространению растительных организмов.

В ил фосфор проникает лишь на глубину 1 мм от поверхности. Этот поверхностный слой ила сохраняет сравнительно большую активность благодаря слабому перемешиванию нижних слоев воды.

В том случае, когда фосфор был внесен в озеро в виде аммонийного фосфата, большая часть его легла непосредственно на дно, в результате чего проникновение P^{32} в ил увеличилось на 67% и обмен между илом и водой продолжался 176 дней, тогда как в водной толще он заканчивался через 30 дней.

Эти наблюдения дают ясное представление о скорости распространения фосфора в воде, иле и в живых организмах.

Работы группы Хейса и Коффина и др. интересны с точки зрения возможности применения метода меченых атомов к изучению ряда процессов, протекающих в естественных водоемах, однако в них нет ясных указаний на то, как можно использовать этот метод при изучении пищевых взаимоотношений отдельных организмов.

Непосредственной задачей нашей работы являлось — разработать методику введения меченого фосфора в клетки Scenedesmus quadricauda

и затем, используя этот организм в качестве источника пищи, пометить фосфором Daphnia longispina и, наконец, найти начальное и конечное время, в течение которого P^{32} может быть обнаружен в исследуемых объектах, а также установить условия, необходимые для получения радиоавтографов.

Введение меченого фосфора в культуру Scenedesmus quadricauda

Культура Scenedesmus quadricauda выращивалась в люминостате на питательном растворе Кнопа для водорослей. Перед введением меченого фосфора культура подвергалась голоданию. Для этого Scenedesmus quadricauda отфильтровывался на стеклянном фильтре, промывался кипяченой водой и вновь переносился на тот же питательный раствор, но лишенный фосфора.

Таблица 1

Общая активность 1 мл культуры Scenedesmus quadricauda, подвергавшейся голоданию

Длительность инкубации культур в питательной среде с уд. акт. 7260 имп/мин.	Активность культуры после инкубации в среде с P^{32} в имп/мин.	Длительность повторной инкубации в питательной среде без фосфора	Активность культуры после повторной инкубации в питательной среде без фосфора в имп/мин.
15 минут	6490	20 минут	4245
30 „ . . .	6365	1 час	5475
1 час	6385	2 часа	—
2 часа	4570	3 „	4165
3 „	6390	20 час.	4175
4 „	6135	4 суток	4040
6 час.	5040	6 „	3040
26 „	5425		

После нескольких дней голодания в культуру вводился фосфорнокислый калий, меченный по фосфору, с таким расчетом, чтобы общая активность была не меньше 0,45 μC на литр.

Таблица 2

Активность 1 мл культуры Scenedesmus quadricauda после вторичного внесения P^{32} в питательный раствор

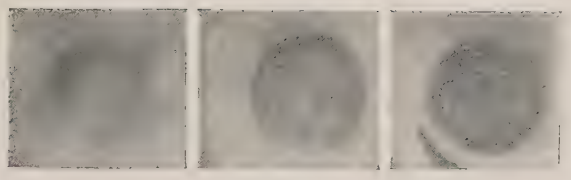
Длительность инкубации Scenedesmus quadricauda в питательном растворе с P^{32} уд. акт. 14520 имп/мин.	Активность культуры после инкубации в имп/мин.
15 минут	8235
30 „	7965
1 час	7795
2 часа	3840
21 час	11210

Для определения поступления активного фосфора в водоросли 1 мл культуры отфильтровывался через бумажный фильтр диаметром в 1 см, промывался водой, высушивался, а его активность определялась на пересчетной установке типа «Б». Эффективность счетчика — $^1/_5$.

Как видно из табл. 1, уже через 15 минут внесенный фосфор поступает в клетки.

При перенесении клеток Scenedesmus, насыщенных активным фосфором, в раствор Кнопа, не содержащий P^{32}, и дальнейшей инкубации они сохраняют его в себе и теряют практически лишь при распаде клеток водоросли.

Можно было предположить, что введенного фосфора, несмотря на большую активность, оказалось количественно так мало, что «голодные» клетки водорослей его сразу же связали. Нас интересовал вопрос, как будет идти связывание фосфора у «сытых» клеток. С этой целью был поставлен опыт в двух вариантах.



I II III

Рис.1

I II

Рис.2

I II

Рис.3

Рис. 1. Радиоавтограф 1 мл культуры Scenedesmus quadricauda; активность — 204 имп/мин

I — экспозиция 24 часа, *II* — экспозиция 72 часа (3 суток), *III* — экспозиция 144 часа (6 суток)

Рис. 2. Радиоавтограф дафний. Экспозиция 8 суток;

I — молодь дафний (16 штук); активность 280 имп/мин. Отпечаток сделан через 12 суток после кормления родителей культурой Scenedesmus, содержащей P^{32}; *II* — молодь дафний (5 штук), активность 260 имп/мин. Отпечаток сделан через 19 суток

Рис. 3. Радиоавтограф дафний

I — четыре крупные дафнии; активность 440 имп/мин. Экспозиция 7 суток; *II* — одна крупная дафния; активность 3.5 имп/мин. Экспозиция 8 суток

В первом случае (табл. 2) была взята та же голодающая культура, опыт с которой представлен на табл. 1, и через 4 часа после внесения первой порции P^{32} была внесена в питательный раствор вторая такая же порция меченого фосфора. В итоге активность 1 мл раствора была 14520 импульсов в минуту.

Как видно из этого опыта, культура водорослей, начальная активность которой была 6135 импульсов в минуту, связала внесенный меченый фосфор через 21 час.

В другом случае (табл. 3) была взята культура Scenedesmus, не подвергавшаяся перед опытом фосфорному голоданию, а развивавшаяся на полной среде Кнопа с фосфором. Число клеток в 1 мл сравниваемых культур было уравнено.

Таблица 3

Активность 1 мл культуры Scenedesmus quadricauda, не подвергавшейся перед опытом голоданию

Длительность инкубации в питательной среде с P^{32} уд. акт. 7260 имп/мин.	Активность Scenedesmus из 1 мл культуры в имп/мин.
15 минут	6145
2 часа	6315
21 час	4960

Во всех этих опытах был использован один и тот же раствор меченого фосфора, который вводился в питательную среду в таком объеме, какой был нужен для получения равной концентрации общего фосфора. В этом случае (табл. 3) скорость связывания P^{32} оказалась такой же, как и в первом опыте (табл. 1), так что можно считать, что концентрация фосфора в растворе Кнопа не является насыщающей для Scenedesmus.

На основании этих опытов можно заключить, что скорость связывания активного фосфора клетками Scenedesmus происходит в течение нескольких минут и отчасти зависит от концентрации фосфора в окружающей среде.

Помимо учета на счетной установке, мы пытались обнаружить методом авторадиографии активный фосфор, связанный клетками Scenedesmus.

Для этого клетки Scenedesmus,— а в дальнейшем и дафнии,— отфильтровывались через бумажный фильтр диаметром в 1 см, промывались и подсушивались при 27—30°. Для получения радиоавтографа фильтры лицевой стороной прикладывались к эмульсионному слою фотопленки Агфа изопан SS, чувствительностью $^{21}/_{10}$ дин, помещались в небольшие пакетики из черной бумаги и плотно прижимались в копировальной рамке. Экспозиция длилась от 24 часов до 8 суток.

На рис. 1 представлены отпечатки Scenedesmus из 1 мл культуры (3,5 млн. клеток в 1 мл), активность которой составляла всего 240 импульсов в минуту.

Возможность выявления клеток, содержащих малые количества активного фосфора, позволяет применять этот метод в полевых условиях. Таким образом, благодаря большой чувствительности фотопленки по отношению к изотопам можно обнаружить в планктонных пробах незначительное количество «меченых» организмов.

Введение меченого фосфора в Daphnia longispina

Для введения P^{32} в тело дафний меченная культура Scenedesmus quadricauda использовалась для них в качестве корма.

Дафнии на 24 часа помещались в сосуд со Scenedesmus, затем отмывались на марле от водорослей и переносились в чистую воду. Обычно через сутки кишечник дафний освобождался от клеток Scenedesmus, и можно было учесть активный фосфор, перешедший в организм рачка.

Нашей задачей было определить активность культуры водорослей, которую можно использовать в виде пищи, для того, чтобы пометить дафний и получить отчетливые радиоавтографы.

Необходимо отметить, что активность «метки» зависит от величины дафнии. Так, в табл. 4 представлены результаты опыта, где в варианте I были взяты для счета три очень мелкие особи, а в варианте III — три крупные; в итоге большое различие в активностях культур Scenedesmus, которыми были накормлены дафнии, не отразилось на активности препаратов.

Таблица 4

Определение активности дафний при кормлении их культурой Scenedesmus quadricauda, содержащей P^{32}

Варианты	Активность 1 мл питательного раствора для Scenedesmus quadricauda в имп/мин.	Активность Scenedesmus quadricauda из 1 мл культуры в имп/мин.	Активность 3 дафний через 2 суток кормления культурой в имп/мин.
I	5930	5635	110
II	2995	1755	125
III	110	130	95

В табл. 5 представлены результаты опыта с тремя сериями дафний, которые в течение 48 часов кормились культурой Scenedesmus quadricauda с различной активностью. Через 48 часов все дафнии были отмыты на марле от водорослей и перенесены в чистую воду. Как видно из табл. 5 и рис. 2, препараты, имеющие активность около 250 импульсов в минуту, дали радиоавтографы. В вариантах II и III опыта через 12 дней число импульсов почти не превышало фон, а отпечатки не получились.

Таблица 5

Активность (в имп/мин) дафний через различные сроки после кормления культурой Scenedesmus quadricauda, содержащей P^{32}

Варианты	Активность Scenedesmus из 1 мл культуры в имп/мин.	Активность 3 дафний		Молодь, вылупившаяся в течение опыта	
		48 часов находились в чистой воде	12 дней находились в чистой воде	16 шт. 12 дней находились в чистой воде	5 шт. 19 дней находились в чистой воде
I	4990	1285	340	280*	260*
II	1290	185	—	—	—
III	130	30	—	—	—

Примечание. * На рис. 2 представлены радиоавтографы этих препаратов. Препараты с меньшей активностью отпечатков не дали.

Через 12 дней крупных дафний осталось очень мало, но появилось много молодых мелких рачков, которые, как показал опыт, также обладали значительной активностью (табл. 5).

Интересно отметить, что активный фосфор прочно удерживался в организме дафний и не обнаруживался в окружающей воде. Вопрос о том, откуда молодые дафнии получили P^{32}, остался неясным. Вероятнее всего, что активный фосфор попал в них еще в эмбриональном состоянии.

На рис. 2 и 3 представлены отпечатки дафний, сделанные после измерения их активности на счетной установке.

Выводы

1. Радиоактивный фосфор, внесенный в питательный раствор, связывается клетками Scenedesmus quadricauda в течение нескольких минут и сохраняется клеткой до ее гибели.

2. Дальнейшее накопление P^{32} клетками, предварительно насыщенными фосфором, зависит от общей концентрации его в растворе.

3. Меченый фосфор в заметных количествах поступает в организм дафний при кормлении их клетками водоросли, имеющими активность около 1500 импульсов в минуту на 3,5 млн. клеток.

4. Для получения отчетливых радиоавтографов дафний в данных условиях активность культуры Scenedesmus quadricauda должна быть не менее 1500 импульсов в минуту на 3,5 млн. клеток, а активность дафний должна равняться примерно 100 импульсам в минуту на одну особь.

Институт микробиологии
Академии наук СССР.
Москва

Получено 12.V.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мануйлова Е. Ф. Опыт первого года работы по повышению продуктивности водоемов Новгородской области. Тр. Проблем. и темат. совещаний, в. I, 56, 1951.
2. Coffin C. C., Hayes F. R. and Whiteway S. C. Exchange of materials in a lake as studied by the addition of radioactive phosphorus. Canad. J. Res. D., **27**, 207 1949.
3. Hayes F. R. and Coffin C. C. Radioactive phosphorus and exchange of lake nutrients. Endeavour, **10** (38), 78, 1951.
4. Hayes F. R., Mc Carter J. A., Cameron M. L. and Lavingstone D. A On the kinetics of phosphorus exchange in lakes. J. Ecol., **40** (1), 1952.
5. McCarter J. A., Heyes F. R., Jodrey L. H. and Cameron M. L. Movement of materials in the hypclimnion of a lake as studied by the addition of radioactive phosphorus. Canad. J. Zool., **30**, No. 2, 1952.

СВОБОДНОЖИВУЩИЕ АЗОТФИКСАТОРЫ В ПОЧВАХ ПОД СТЕПЬЮ И ПОД ЛЕСОМ РАЙОНОВ КАМЫШИНА, СТАЛИНГРАДА И ТИНГУТЫ *

А. Я. Мантейфель и *Е. И. Козлова*

Кафедра микробиологии Московского университета пятый год проводит изучение микрофлоры почв районов Камышина, Сталинграда и Тингуты, а также микрофлоры ризосферы деревьев, применяемых для посадок в этих районах.

В предыдущей работе [7] нами была дана общая характеристика микрофлоры ризосферы дуба, так как это дерево играет главную роль в лесопосадках данных районов.

Затем мы перешли к изучению микрофлоры ризосфер других деревьев и кустарников, применяемых при лесопосадках в качестве сопутствующих пород, а также к сравнительному изучению распространения и состава отдельных физиологических групп микроорганизмов в ризосферах деревьев и почвах.

Прежде всего следовало остановиться на азотфиксирующих бактериях. При лесопосадках, несомненно, очень большое значение имеет наличие и активность в данной почве свободноживущих азотфиксаторов (азотобактера и Clostridium pasteurianum), так как азотистое удобрение под сеянцы деревьев не вносится.

Данные об азотфиксаторах в ризосфере дуба изложены в настоящей работе. Данные о микрофлоре ризосферы других деревьев и кустарников будут опубликованы в ближайшее время.

В изучаемых нами районах климатические условия для развития азотобактера весьма жесткие: низкая влажность в летние месяцы, высокая температура; кроме того, отрицательное влияние могли оказать часто обнаруживаемый недостаток фосфора и малое количество используемого азотобактером органического вещества. Все это заставляло сомневаться, что нам удастся обнаружить азотобактер в изучаемых почвах, тем более, что в литературе были указания на отсутствие азотобактера в каштановых и светлокаштановых почвах [5, 12].

Почвы изучаемого нами района (каштановые и светлокаштановые) на наличие азотобактера ранее не обследовались, и возможность развития в них азотобактера не изучалась.

Все эти почвы имели вполне приемлемую для азотобактера активную кислотность; pH колебался в них около 7; почвы дубового леса имели несколько более низкое (на 0,2—0,3) значение pH, чем почвы степи.

Мы поставили своей задачей провести сравнительное обследование степных почв, почв природных лесов и лесных насаждений. Эти данные могли дать указания на то, будет ли азотобактер сохраняться и развиваться в почве под посадками деревьев, если он имелся в почве под степью, засеваемой древесными породами.

Проведенные нами обследования показали наличие азотобактера во всех анализированных образцах почв, взятых как в степи, так и в лесу,

* В работе принимала участие студентка Г. И. Денисова.

правда — иногда в небольших количествах. Анализы проводились методом проращивания комочков почвы на геле со средой Эшби. Приводимые ниже цифры показывают процент комочков, давших развитие азотобактера.

Из трех изучаемых районов наибольшее количество азотобактера встречалось в Тингутинском районе (до 51%), наименьшее — в Камышинском (до 15%, чаще 6—8%) и среднее между ними — в Сталинградском (до 40%, чаще около 25%).

Засоление почвы не мешало развитию азотобактера. Во многих случаях на солонцовых пятнах его было больше, чем в близлежащих незасоленных почвах, как, например, в сильно засоленной почве камышинской степи (пористый солонец), в солонцовых пятнах на госполосе близ Тингутинского разъезда (табл. 1) и др.

Таблица 1

Количество азотобактера в засоленных почвах

(% комочков с азотобактером)

Места взятия проб почвы	Весна	Осень
Солонец (Камышин)	18,5	13,0
Контроль	9,1	6,5
Солонец (Тингутинский разъезд) . .	18,0	—
Контроль	8,0	—

Примечание. Контроль — незасоленная почва близ солонцовых пятен.

Эти данные вполне соответствуют данным Сабинина и Генкеля [10], Сушкиной [11 и 12], Вернера [11] и других.

Таким образом, большой процент засоленных почв в изучаемом районе совершенно не препятствует распространению азотобактера, а скорее даже стимулирует его.

Что касается распределения азотобактера по профилю почв, то, как правило, количество его убывает с глубиной, однако его часто можно обнаружить на глубине 100—150 см (рис. 1, кривые *1* и *2*).

В некоторых случаях, например при сильном высушивании и нагреве поверхностных слоев почвы степи, азотобактер в больших количествах выделяется из более глубоких слоев (рис. 1, кривая *3*). То же наблюдалось и в почве солончака, когда на поверхности имелись выцветы солей (рис. 2).

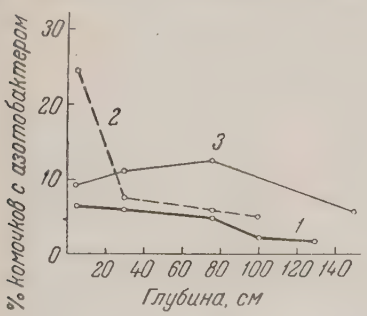


Рис. 1. Распределение азотобактера по профилю почв. *1* — степь (Камышин); *2* — лесопитомник (Сталинград); *3* — сухая степь (Камышин)

По нашим данным [7], азотобактер хорошо приживается в ризосфере дуба. Однако из этих данных нельзя сделать прямого вывода о его развитии в почве дубового леса, так как источники необходимого азотобактеру углеродистого материала в почве и в ризосфере будут неодинаковы. В ризосфере — это экзосмирующие из растения вещества, часть которых непосредственно может быть усвоена азотобакером; затем это сравнительно легко разлагаемые клетчатковыми бактериями отбросы молодых корней; азотобактер же, как известно, может использовать промежуточные продукты разложения клетчатки [3, 16]. В почве леса при разложении сложных органических веществ, содержащихся в опаде деревьев (листья, сучки, кора), по данным Частухина [14, 15], участвуют главным образом высшие и низшие грибы и лишь в конечных стадиях бактерии. Превращения органического вещества здесь сложнее и очень мало изучены.

Однако все же несомненно, что влияние ризосферы определенных лесных пород, доминирующих в насаждении, должно в известной мере сказаться на составе микрофлоры лесной почвы.

Для обследования были взяты почвы природного дубового леса (балки в Сталинграде и Камышине), почвы лесных насаждений (лес с преобладанием дуба в Тингутинском лесхозе и смешанный лес в Камышине), почвы питомников дуба (Сталинград, «Лапшин сад» и Камышин, лесопитомник) и почвы из-под посадок дубков на лесополосе (в 21 км от Камышина) и на полосе близ Тингутинского разъезда.

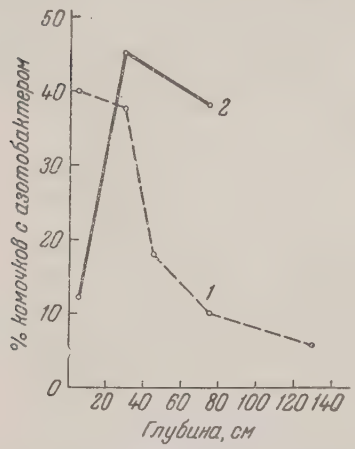


Рис. 2. Распределение азотобактера по профилю солончака (Камышинский район). *1* — незасоленная почва; *2* — почва солончака

Проведенное сравнительное изучение количества азотобактера в почвах под лесом и рядом лежащих почвах под степью (контроль) дало определенные, но противоречивые результаты.

Анализы сталинградских и тингутинских почв выявили резкое преобладание азотобактера в почвах под лесом (Григоровская балка, Тингутинский лесхоз), тогда как в камышинских почвах (смешанный лес, сосновый лес) получилась обратная картина (рис. 3). Ни влажность, ни активная кислотность указанных почв объяснения этого явления не давали. Пришлось искать других причин.

Мы обратили внимание на состояние лесонасаждений. Оказалось, что тогда как в Григоровской балке и в Тингутинском лесхозе дуб развивается хорошо и преобладает среди лесных пород, в смешанном лесу в Камышине дуб находится в весьма угнетенном состоянии и из года в год все больше вытесняется другими породами. Возможно, что установленное нами ранее накопление азотобактера в ризосфере дуба [7] отражается на повышенном его содержании в почве лесов с преобладанием здорового, хорошо развитого дуба.

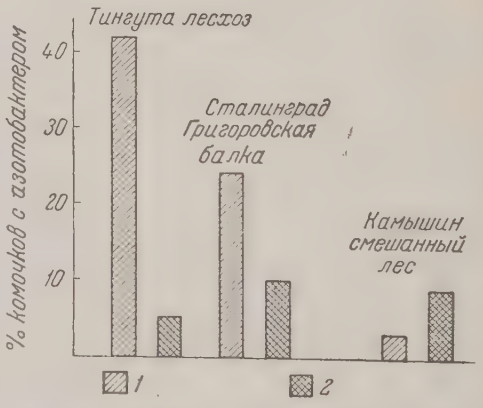


Рис. 3. Содержание азотобактера в лесных и степных почвах. *1* — почва леса; *2* — почва степи

Подтверждение этого предположения мы нашли при анализах почвы из балки близ совхоза «Пионер», в 10 км от Камышина, с почти чистой, хорошо развивающейся дубовой порослью, где было найдено 22—46% проросших комочков азотобактера при 0% в контрольной почве под степью. Таким образом, и в Камышинском районе в почве под хорошо развивающимся дубом найдено много азотобактера, тогда как в рядом лежащей почве под степью в этом же году его совсем не обнаружено. Показательны также анализы почв питомников дубков: в сталинградском питомнике «Лапшин сад» развитие дубков было нормально, и в почве между дубками-трехлетками было найдено довольно значительное количество азотобактера (24—26% проросших комочков), а в посадках дубков около Камышина, где дубки были сильно угнетены, всего 2—3% комочков дали развитие азотобактера.

Эти примеры заставляют предполагать определенную связь развития азотобактера с состоянием лесонасаждения, в данном случае дуба.

Интересные данные получены при изучении весенних и осенних образцов почв в засушливом 1951 г. Климат изучаемого района вообще является засушливым, резко континентальным, с малым количеством осадков и сильным нагревом почвы (до 70°) [13]. Лето 1951 г. было чрезвычайно засушливым — в некоторых местах влажность дошла почти до мертвого запаса. Особенно сухими были июль и август.

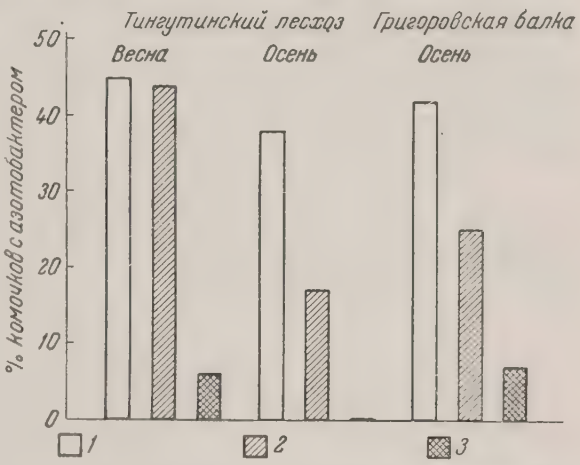


Рис. 4. Количество азотобактера в ризосфере дуба, в почве леса и степи (1951 г.). *1* — ризосфера; *2* — почва под лесом; *3* — почва под степью

Учет количества азотобактера в ризосфере дуба, почве дубового леса и почве степи дал результаты, представленные на рис. 4 и 5.

Наибольшее количество азотобактера и осенью и весной, как правило, имелось в ризосфере дуба. Но особенно резко это было выражено осенью после двух засушливых месяцев. Даже в тех случаях, когда азотобактер совсем не обнаруживался в почвах под степью и количество его было сильно снижено в почвах под лесом, в ризосфере дуба он еще обнаруживался в достаточном количестве. Это наблюдалось во всех обследованных районах (рис. 4 и 5). Получалось впечатление, что азотобактер засуху переживает в ризосфере.

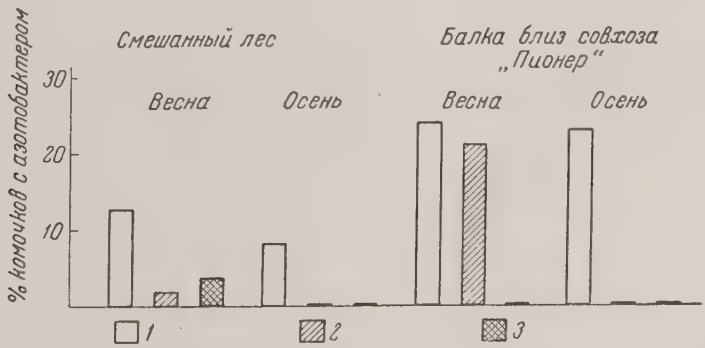


Рис. 5. Количество азотобактера в ризосфере дуба, в почве леса и степи (Камышин, 1951 г.). *1* — ризосфера; *2* — почва леса; *3* — почва степи

Таким образом, во всех обследованных районах азотобактер имеется. Конечно, трудно предположить, что он проявляет свою жизнедеятельность постоянно, особенно в условиях крайней летней сухости почв под степью. Но несомненно, что он как-то приспособляется к перенесению неблагоприятных климатических условий, сохраняясь или в ризосфере, или в глубине почвы и затем, при наступлении благоприятных условий, возобновляя свою жизнедеятельность.

Из многих обследованных образцов нами были выделены чистые культуры штаммов азотобактера и изучены их морфологические и культуральные особенности в связи с их местом обитания. Каких-либо сущест-

венных отличий среди этих штаммов не обнаружено. Все выделенные как из ризосферы, так и из почвы различных районов штаммы определены как Azotobacter chroococcum; Azotobacter vinelandii нами ни в ризосфере дуба, ни в почве ни разу обнаружен не был. Форма, выделенная из засоленных почв (солонца и солончака), также каких-либо значительных отличий не имела. Диффузии бурого пигмента в среду, являющейся, по Сушкиной, признаком солеустойчивого азотобактера (Azotobacter galophilum), у наших форм не наблюдалось.

Определялась азотфиксирующая способность штаммов, выделенных из разных мест обитания. Развитие культуры происходило на среде Эшби, определение азота велось по методу микрокьельдаля. Опыты и определения азота велись в трех повторностях. Результаты для некоторых штаммов даны в табл. 2.

Таблица 2

Количество азота, фиксированного разными штаммами азотобактера

Почвы, из которых выделены культуры		Количество фиксированного азота в 100 мл культуральной жидкости за 8 суток в мг
Сталинград	лес	7,76
	степь	6,27
Камышин	смешанный лес	6,84
	степь	7,21
	степь с глубины 150 см	4,09
	солонец	6,13

Как можно видеть, количество фиксированного азота у разных штаммов мало отличается, и все изученные штаммы обладают этой способностью в нормальной степени, кроме той формы, которая была выделена из образца почвы под степью с глубины 1,5 м и выявила пониженную способность к фиксации.

Таким образом, в нашей работе установлено наличие азотобактера почти во всех образцах почв изучаемого района. За 5 лет нашей работы было обследовано на наличие азотобактера около 100 образцов почв и ризосфер деревьев из этих районов. Из некоторых мест образцы брались повторно в течение нескольких лет. Следовательно, несмотря на тяжелые для азотобактера условия, развиваться он в этих почвах может. Это заставляет предполагать, что в тех районах, где он обнаружен в небольших количествах, внесение его в почву при лесопосадках, совместно с фосфорным и органическим удобрением, может дать хорошие результаты. Однако в неблагоприятных условиях обследованных районов особенно важно применение местного штамма [4, 6, 8], который, несомненно, даст лучшие результаты, чем обычный заводской.

Анаэробный фиксатор азота — Clostridium pasteurianum обнаруживался во всех обследованных образцах сталинградских, камышинских и тингутинских почв. Количественный учет Clostridium pasteurianum производился методом последовательных разведений почвенной болтушки и высевом соответствующих разведений на безазотистую среду Виноградского.

Наличие клостридиума в почвах изучаемого района имеет важное значение. За последние годы интерес к этому фиксатору азота возрос, так как показано, что внесение его под сельскохозяйственные культуры дает прирост урожая и попутно усиливает развитие азотобактера и нитрификаторов [2]. Клостридиум как бактериальное удобрение уже применяется в полевых условиях. Тем больший интерес представляет обнаружение его в почве, предназначенной для лесопосадок. В изучаемых районах он встречается в значительных количествах (табл. 3).

Clostridium pasteurianum был найден в количестве $1 \cdot 10^2 — 1 \cdot 10^3$ на 1 г почвы даже в почве соснового леса в Камышине, которая вообще сравнительно бедна микроорганизмами.

При изучении его распространения по профилю почв установлен тот факт, что, несмотря на то, что он является строгим анаэробом, он в больших количествах встречается в данных районах в верхних слоях почвы

Количество Clostridium pasteurianum в лесных и степных почвах

(в 1 г почвы на глубине 10—15 см)

Места взятия проб почвы	Время года	Лес	Степь
Тингутинский лесхоз	Весна	$1 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$
	Осень	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^4$
Сталинград:			
Григоровская балка	Весна	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$
	Осень	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^4$
Камышин:			
Лесопитомник	Весна	$1 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^3$
	Осень	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^4$
Балка близ совхоза „Пионер"	Весна	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$
	Осень	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$

(10—15 см от поверхности); в редких случаях количество его одинаково на глубине 10—30—50 см. Падение числа клеток клостридиума с глубиной, очевидно, связано с недостатком в глубоких слоях органического вещества, без которого он развиваться не может. Ряд проведенных нами анализов показал, что содержание в почве органического вещества тоже довольно резко падает с глубиной. Так, например, для почвы под степью около Камышина получены следующие результаты (табл. 4).

Таблица 4

Содержание органического вещества и клостридиума по профилю почвы

Глубина в см	Клостридиум в 1 г почвы	Органическое вещество, %
5—10	$1 \cdot 10^3$	3,00
30	$1 \cdot 10^2$	1,50
75	$1 \cdot 10$	0,45
100	$1 \cdot 10$	0,30
130	0	—

В случаях развития в верхних слоях почвы клостридиум, очевидно, удовлетворяет свою потребность в анаэробиозе, сожительствуя с теми или иными аэробными бактериями.

Один из таких аэробных спутников клостридиума, очень трудно от него отделимый, выделен из ряда культур клостридиума из наших образцов почв и изучен Работновой с сотрудниками [9].

Засоление почвы не мешает развитию клостридиума; он встречается на солонцовых пятнах в том же количестве, как и в контрольной (незасоленной) почве.

Выводы

1 Изучались свободноживущие азотфиксирующие бактерии в почвах районов Камышина, Сталинграда, Тингуты в связи с лесопосадками.

2. Во всех почвах этих районов — каштановых и светлокаштановых, под степью и под лесом — обнаружены оба фиксатора азота: азотобактер и Clostridium pasteurianum.

3. По профилю почвы наблюдается уменьшение числа клеток с глубиной и того и другого азотфиксатора в связи со снижением содержания органического вещества в почве.

4. Засоление почвы не мешает развитию обоих азотфиксаторов

5. Развитие азотобактера в почве дубового леса связано с состоянием лесонасаждения. Хорошее развитие его наблюдается в почве лесов с преобладанием здорового дуба, что, повидимому, связывается с накоплением азотобактера в ризосфере дуба.

6. В засушливые периоды азотобактер сохраняется в основном в ризосфере.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова

Получено 19. VI. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вернер А. Р. Еще раз о солестойкости азотобактера. Микробиология, XX, вып. 5, 1951.
2. Возняковская Ю. М. Роль Clostridium pasteurianum как фактора, повышающего эффективность бактеризации семян азотобактером. Микробиология, XVII, вып. 5, 1948.
3. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. Симбиоз целлюлозных и азотфиксирующих бактерий. Микробиология, IX, вып. 9—10, 1940.
4. Квасников Е. И. Выступление на Всесоюзной конференции по почвенной микробиологии. Тр. Конференции по вопросам почвенной микробиологии. Изд-во АН СССР, 1953.
5. Красильников Н. А., Крисс А. Е. и Литвинов М. А. Влияние корневой системы на микроорганизмы почвы. Микробиология, V, вып. 2, 1936.
6. Малышкин П. Е. Влияние почвенных микроорганизмов на рост дуба. Почвоведение, № 5, 1951.
7. Мантейфель А. Я., Жукова А. И. и Демьянова Э. К. Изучение микрофлоры ризосферы дуба. Микробиология, XIX, вып. 6, 1950.
8. Паносян А. К. Выступление на Всесоюзной конференции по почвенной микробиологии. Тр. Конференции по вопросам почвенной микробиологии. Изд-во АН СССР, 1953.
9. Работнова И. Л., Егорова В. К., Озолина Г. К. и Елецкий И. К. О некоторых особенностях физиологии Clostridium pasteurianum. Микробиология, XXI, вып. 4, 1952.
10. Сабинин Д. А. и Генкель П. А. Распространение азотобактера в почвах Троицкого округа Уральской области. Природа и сельское хоз-во засушливо-пустынных областей СССР, № 1-2, 1927.
11. Сушкина Н. Н. Систематическое положение солеустойчивого азотобактера. Вестн. Моск. ун-та, № 6, 1949.
12. Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. 1949.
13. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, I, вып. 1.
14. Частухин В. Я. Экологический анализ распада растительных остатков в еловых лесах. Почвоведение, № 2, 1945.
15. Частухин В. Я. Роль грибов в процессах почвообразования. Тр. Конференции по вопросам почвенной микробиологии. Изд-во АН СССР, 1953.
16. Штуцер Ю. М. О симбиотических отношениях между целлюлозоразрушающими бактериями и азотобактером. Микробиология, XIV. вып. 2, 1945.

О ВЛИЯНИИ ЗАСОЛЕНИЯ НА AZOTOBACTER CHROOCOCCUM И AZOTOBACTER GALOPHILUM

Г. Н. Блинков

Вопрос об отношении азотобактера к засолению затрагивался рядом авторов в связи с изучением распространения этого микроба в почвах. Работами Келлера и Карельской [8], Сабинина и Генкеля [11], Генкеля и Захаровой [4], Германова [5, 6, 7], Сушкиной [15] и других исследователей было установлено, что засоленные почвы обычно очень богаты азотобактером. На основе такого рода данных сложилось мнение, что засоление не только не препятствует, но даже, повидимому, содействует развитию азотобактера.

Вернер [2] в Центральной Барабе обнаружил азотобактер только в засоленных почвах и не нашел его в незасоленных черноземно-луговых, солодях и торфяных почвах; это привело его к выводу, что азотобактер следует отнести к галофильным организмам.

Мнение Вернера, что распространение азотобактера приурочено только к засоленным почвам, ошибочно даже в отношении Центральной Барабы, так как Блинковым [1] азотобактер найден не только в засоленных, но и незасоленной черноземно-луговой почве этого района.

Известно, что в различных почвах, в том числе и засоленных, распространен преимущественно Az. chroococcum, но в некоторых засоленных почвах, как это впервые было установлено Сушкиной [12, 13, 14, 15], находится своеобразная форма азотобактера, которую Красильников [9] относит к самостоятельному виду Az. galophilum и которая от Az. chroococcum отличается высоким осмотическим давлением, солестойкостью и способностью выделять свой пигмент в субстрат.

Сравнительных данных об отношении к засолению указанных видов азотобактера в литературе имеется мало, в связи с чем проведена настоящая работа.

Экспериментальная часть

Исследования проводились над штаммами, выделенными автором из различных почв Сибири. Использовано 36 штаммов Az. chroococcum и один штамм Az. galophilum, выделенный из солончака Кулунды (колхоз им. Чкалова, Андреевского района, Новосибирской обл.), из образца, любезно предоставленного автору доцентом кафедры почвоведения Томского университета Т. П. Славниной.

Для выяснения влияния засоления на Az. chroococcum культуры выращивались в стерильных условиях на агаровых средах с сахарозой, при различной концентрации солей. В качестве контроля взята среда Омелянского и Северовой. Засоление создавалось путем добавления к среде смеси солей натрия (Na_2SO_4 и NaCl) и магния ($MgSO_4$), при доведении общей концентрации растворимых солей от 1 до 8%.

Среда с 8%-ной концентрацией солей имела следующий состав: водопроводной воды 1 л, агара 20 г, сахарозы 20 г, мела 5 г, двукалиевого фосфата 1 г, хлористого натрия 51,9 г, сернокислого натрия 12,9 г и сернокислого магния 14,8 г. Соли натрия и магния взяты в соответствии с тем, что, согласно исследованиям Петрова [10], эти соли в указанной кон-

центрации осуществляют засоление озера Карачи, из грязи которого выделен один из исследуемых штаммов Az. chroococcum. Для получения менее засоленных сред концентрация солей соответственно снижалась.

Наблюдения показали, что все исследуемые штаммы Az. chroococcum способны переносить очень высокую концентрацию солей (до 8%), но их развитие солями не только не стимулируется, но угнетается. Угнетение наблюдается уже при 1% солей и проявляется в том, что культура медленнее растет, имеет более жидкую консистенцию, позже пигментируется и интенсивность ее окраски ослабевает. По мере увеличения концентрации солей угнетение культуры усиливается, и при 8% солей она развивается лишь в виде отдельных мелких колоний, имеющих консистенцию жидкого клейстера и не пигментирующихся даже в том случае, если в нормальных условиях они окрашиваются в интенсивно черный цвет. Сходные результаты получаются при замене указанной смеси солей хлористым натрием, а также при замене агаровых сред почвенными пластинками, для которых использовалась темносерая почва с добавлением сахара и солей.

Угнетающему действию солей подвержены все без исключения штаммы Az. chroococcum, в том числе и те, которые выделены из засоленных почв; правда, последние переносят высокие концентрации солей несколько лучше, чем штаммы из незасоленных почв.

Засоление оказывает отрицательное влияние не только на развитие азотобактера, но и на его азотфиксацию. Для выяснения этого вопроса использованы только штаммы из засоленных мест, как более солестойкие. Культуры, как и в предыдущих исследованиях, выращивались в стерильных условиях в чашках Петри на агаровых средах с различной концентрацией солей. Каждая чашка заливалась 30 мл среды и засевалась 1 мл суспензии, полученной путем смывания культуры из одной пробирки 30 мл стерильной водопроводной воды. Засеянные чашки выдерживались в термостате при 27°.

В возрасте 10 суток культуры смывались дестиллированной водой в тугоплавкие колбы и по методу Кьельдаля анализировались на содержание общего азота. Повторность определений четырехкратная. Средние данные анализов приводятся в табл. 1, в которой вместе с тем даются сведения о происхождении штаммов.

Таблица 1

Влияние засоления на азотфиксацию Az. chroococcum

(В мг азота на 1 г сахарозы)

Штаммы	Почва, из которой выделен штамм	Откуда взят образец почвы	Накопление азота при разной концентрации солей			
			контроль	1%	2%	3%
16	Солончак	Алтайский край	10,63	10,39	8,83	8,11
11	То же	Красноярский край . . .	11,04	9,96	8,75	7,80
145	Лечебная грязь	Новосибирская обл., оз. Карачи	10,31	9,83	7,59	6,00
167а	Луговой солончак	Новосибирская обл. . . .	9,11	8,18	6,83	4,51

Табл. 1 показывает, что на обычной среде исследуемые штаммы усваивают от 9,11 до 11,04 мг азота на 1 г использованной сахарозы, что вполне соответствует «нормальной» продуктивности азотфиксации, установленной Виноградским [3]. Под влиянием засоления усвоение азота снижается. Снижение наблюдается уже при 1%-ной концентрации солей и усиливается по мере повышения засоления, достигая при 3%-ном засолении 24—55% от «нормальной» азотфиксации.

К засолению более стоек штамм № 16, а за ним в нисходящем порядке следуют штаммы № 11, 145 и 167а. Особенно интересно то, что повышенная чувствительность к засолению проявляется у штамма № 145, несмотря на то, что именно в соответствии с его естественной средой и подобрано засоление в опытах.

Иное отношение к засолению проявляется у кулундинского штамма Az. galophilum: он нормально развивается только на засоленных средах, а при посевах на обычных средах развивается все хуже и хуже, почти не пигментируется и вскоре вырождается.

Во время испытания галофильного азотобактера на обычных средах от него отщепились колонии типичного Az. chroococcum. Таким образом, в одной и той же почве оказалось два вида азотобактера. Из них Az. galophilum встречается в изобилии, а Az. chroococcum — в незначительном количестве.

Культуры обоих видов были подвергнуты более детальному исследованию в отношении влияния засоления на их развитие, морфологические свойства и азотфиксацию. Для морфологических исследований культуры выращивались на кремнекислых и агаровых средах, а для изучения азотфиксации только на кремнекислых средах; при этом в качестве углеродного питания в обоих случаях употреблялась сахароза.

Развитие культуры обоих штаммов в зависимости от засоления показано в табл. 2, составленной на основе 15-дневных наблюдений.

Табл. 2 показывает, что наилучшее развитие наблюдается у штамма Az. chroococcum на нормальной среде и у штамма Az. galophilum — при концентрации солей в 3—5% и что угнетающее действие засоления у первого начинает проявляться уже при 1%-ной концентрации и у второго лишь при 6%-ной концентрации солей. Такая закономерность в одинаковой мере проявляется как на агаровой, так и на кремнекислой среде, а также при замене указанной выше смеси солей хлористым натрием.

Таблица 2

Влияние засоления на развитие и пигментацию Az. chroococcum и Az. galophilum

Условия опыта (конц. солей в %)	Характеристика культуры	
	Az. chroococcum	Az. galophilum
Обычная среда	Хорошо развилась через сутки, стала пигментироваться на четвертые сутки, окрасилась в темнокоричневый цвет	Развитие хуже, чем при засолении, стало заметным через двое суток, через 15 суток культура лишь слегка побурела
1	Хорошо развилась через сутки, стала пигментироваться на пятые сутки, окрасилась в коричневый цвет	Хорошо развилась через сутки, стала пигментироваться на четвертые сутки, окрасилась в коричневый цвет
3	Развитие хуже, чем на нормальной среде, стало заметным на шестые сутки, культура окрасилась в светлокоричневый цвет	Хорошо развилась через сутки, стала пигментироваться на третьи сутки, окрасилась в темнокоричневый цвет
5	Развитие гораздо хуже, чем на нормальной среде, заметным стало на 10-е сутки, через 15 суток культура окрасилась в буроватый цвет	Хорошо развилась через сутки, стала пигментироваться на третьи сутки, окрасилась в темнокоричневый цвет
6	Развилась слабо и не образовала пигмента	Развитие происходило несколько медленнее и хуже, чем при 5%-ном засолении
9	Не развилась	Развитие стало заметным через 10 суток, через 15 суток культура развилась очень слабо, имела водянистый вид и не образовала пигмента

Для изучения морфологических свойств колоний азотобактера наиболее подходящей является агаровая среда. При 3%-ном засолении на агаровой среде колонии штамма галофильного азотобактера можно охарактеризовать так: в молодом возрасте жидкие, гладкие, прозрачные; в зрелом возрасте — пастообразной консистенции, складчатые, белые, с ограниченным ростом, в диаметре 2—5 мм; при старении окрашиваются в темнокоричневый цвет, выделяя пигмент в субстрат. Колонии штамма Az. chroococcum на нормальной среде по ряду признаков сходны с колониями Az. galophilum на засоленных средах, но отличаются от них тем, что обладают неограниченным ростом, в зрелом возрасте — матовые и при пигментации не выделяют своего пигмента в субстрат.

Для выяснения морфологических свойств клеток обе культуры были подвергнуты микроскопическому исследованию. Микроскопировались агаровые культуры в живом и окрашенном состоянии, начиная с полусуточного и кончая четырехсуточным возрастом. Пробы для изготовления препаратов брались через каждые 12 часов. Исследования показали, что цикл развития и цитологические особенности клеток у Az. chroococcum и Az. galophilum совершенно одинаковы: в самом молодом возрасте клетки имеют вид гомогенных удлиненных палочек с закругленными концами; эти клетки делятся, заполняются крупными блестящими зернами, укорачиваются, принимают круглую форму и, наконец, покрываются капсулой. Не отличаются культуры и по величине клеток: их палочковидные клетки имеют размеры 3—6 × 1,5—2,5 μ, а круглые клетки — 1,5 × 2,5 μ.

Азотфиксирующая способность исследовалась по методу Кьельдаля. Анализировались 10-суточные культуры, выращенные на силикагеле при разной степени засоления и затем высушенные вместе с субстратом. Определения проводились в четырехкратной повторности. Средние данные приводятся в табл. 3.

Таблица 3

Влияние засоления на продуктивность азотфиксации Az. chroococcum и Az. galophilum

Условия опыта (конц. солей в %)	Усвоили азота в мг на 1 г сахарозы	
	Az. chroococcum	A. galophilum
Обычная среда . .	11,34	8,88
1	10,56	9,68
3	9,10	10,22
5	6,67	10,05

Из табл. 3 видно, что под влиянием засоления азотфиксация подчиняется той же закономерности, что указана выше в отношении общего развития и пигментации культуры: наиболее высокая продуктивность азотфиксации наблюдается у Az. chroococcum на нормальной среде, а у Az. galophilum — при засолении в 3—5%. При этом первая культура на 1 г использованной сахарозы максимально усваивает 11,34, а вторая — 10,22 мг азота, что находится в пределах нормы.

По ряду существенных морфологических признаков и циклу развития кулундинский Az. galophilum сходен с Az. chroococcum, из которого он, вероятно, и произошел под влиянием засоления. Однако для формирования Az. galophilum, повидимому, требуется специфический солевой состав, а обычного засоления недостаточно. Такое предположение подтверждается тем, что засоленные почвы, как правило, содержат в себе типичных представителей Az. chroococcum, существенно не отличающихся от штаммов незасоленных почв; галофильный же азотобактер встречается в них в виде редкого исключения.

То, что в почве, способной сформировать солестойкий азотобактер, находится и несолестойкий азотобактер, очевидно, объясняется тем, что последний еще сравнительно недавно занесен сюда из соседней почвы.

Следует отметить, что штамм галофильного азотобактера из Кулунды от штамма галофильного азотобактера, выделенного Сушкиной из почв Саратовской обл., существенно отличается по морфологическим свой-

ствам и еще в большей степени по продуктивности азотфиксации: саратовский штамм на 1 г окисленного вещества усваивает 3 мг азота, а кулундинский — свыше 10 мг азота. С учетом указанных различий целесообразно изменить и характеристику вида Az. galophilum.

Выводы

1. В самых разнообразных почвах Сибири, как правило, распространен Az. chroococcum, и лишь в редких засоленных почвах находится Az. galophilum.

2. Az. chroococcum способен переносить очень высокие концентрации солей, но засоление не стимулирует, а угнетает его развитие.

3. Угнетение Az. chroococcum проявляется уже при однопроцентной концентрации солей.

4. Для Az. galophilum засоление до известных пределов является непременным условием нормального существования. Наиболее интенсивно он развивается при концентрации солей в 3—5%.

5. Az. galophilum, по всей вероятности, произошел из Az. chroococcum под влиянием засоления, но так как в засоленных почвах он встречается очень редко, то очевидно, что обычного засоления для его формирования недостаточно, а требуются еще какие-то специфические примеси солей.

6. В природе существуют разновидности Az. galophilum, резко различающиеся по морфологическим свойствам и способности к азотфиксации, что говорит о высокой экологической пластичности того микроба.

Томский государственный
педагогический институт

Получено 3. V. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блинков Г. Н. Продуктивность азотфиксации азотобактера сибирских почв. Микробиология, XXII, 663, 1953.
2. Вернер А. Р. Еще раз о солестойкости азотобактера. Микробиология, XX, 400, 1951.
3. Виноградский С. Н. Об азотфиксирующих микробах. Микробиология почвы, гл. 5, стр. 561, 1952.
4. Генкель П. А. и Захарова А. Д. Материалы по микробиологии почв Троицкого округа Уральской области. Тр. Биол. н.-иссл. ин-та и Биол. станции при Перм. гос. ун-те, II, вып. 4, ч. 1, 460, 1930.
5. Германов Ф. Н. Населенность бактериями и азотфиксирующая способность солонцов. Материалы Всес. съезда сахарной промышленности, 1928.
6. Германов Ф. Н. Населенность бактериями и азотфиксирующая способность солонцов сравнительно с другими черноземными почвами лесостепи Украины. Тр. Всес. центр. н.-иссл. ин-та сахарной промышленности, вып. 2, 106, 1929.
7. Германов Ф. Н. Биология и биодинамика солончаков, солонцов и осолодненных почв. Почвоведение, № 3, 203, 1933.
8. Келлер Б. А. и Карельская А. Ф. Исследования в области географии и экологии почвенных микробов. Природа и сельское хозяйство засушливых областей СССР, № 1-2, 1926.
9. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов, Изд-во АН СССР, 1949.
10. Петров А. П. Химический состав карачинской лечебной грязи. Курорт оз. Карачи, вып. 4, стр. 27, Новосибирск, 1935.
11. Сабинин Д. А. и Генкель П. А. О распространении Azotobacter в почвах Троицкого округа Уральской области. Природа и сельское хозяйство засушливых областей СССР, № 1-2, стр. 65, 1927.
12. Сушкина Н. Н. Азотобактер засоленных почв, его распространение и характеристика. Сообщ. I. Вестн. МГУ, № 7, 105, 1948.
13. Сушкина Н. Н. Фиксация азота и биологические особенности азотобактера, выделенного из засоленных почв Нижней Волги. Сообщ. II, Вестн. МГУ, № 10, 195, 1948.
14. Сушкина Н. Н. Систематическое положение «солеустойчивого» азотобактера. Сообщ. III, Вестн. МГУ, № 6, 123, 1949.
15. Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. 1949.
16. Сушкина Н. Н. Современные данные по экологии Az. chroococcum. Микробиология, XXI, 96, 1952.

ВЛИЯНИЕ ОПАДА ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ НА МИКРОФЛОРУ ЧЕРНОЗЕМНЫХ ПОЧВ СУХОЙ СТЕПИ

Е. В. Рунов и М. Г. Еникеева

Существование связи между почвой и жизнедеятельностью высших и низших организмов было постулировано В. В. Докучаевым [3]. Эти идеи были восприняты и развиты В. Р. Вильямсом [1]. Докучаев говорил следующее: «Столь же понятна, естественна и столь же крепка и та постоянная генетическая связь, какая ныне существует и всегда существовала между почвами, с одной стороны, и обитающими на них растительными и животными (как высшими, так и особенно низшими) организмами, с другой,— связь, живущая и действующая между почвами и именно целыми растительными и животными ассоциациями, а не отдельными видами и даже родами их». «Впрочем, поскольку эти последние, т. е. виды и разновидности, отражают на себе общий облик и характер целой геоформации,— например, ковыль (Stipa pennata), сурок (Artomys bobac) и пр.,— они также могут и должны быть признаны прямыми указателями известного типа почв».

Вильямс подчеркивал приуроченность отдельных сообществ низших организмов к определенным ассоциациям высших растений.

За последние годы накоплены веские факты, свидетельствующие о специфическом воздействии растений на микрофлору почвы. Так, например, материалы, собранные Мишустиным [9, 10] с сотрудниками, показывают наличие характерных особенностей в составе микробного населения в различных типах почв. Многочисленные исследования Красильникова с сотрудниками проливают свет на интимные стороны взаимосвязей высших и низших растений. Красильников приводит ряд убедительных доводов в пользу мощной селекционирующей роли растений в образовании микробных ценозов в почвах. По его данным, среди таких факторов, как физико-химические свойства почвы, присутствие в ней того или иного количества органических и минеральных питательных веществ, климатические условия, наибольшее значение в отборе микроорганизмов в почве имеют растения. Последние способствуют своими корневыми выделениями развитию в ризосфере определенных видов микроорганизмов. Каждому виду или группе растений в большей или меньшей степени соответствует своя микрофлора.

Согласно Красильникову [4, 5, 6, 7, 8], отбор почвенной микрофлоры протекает также и под воздействием мертвых растительных остатков (корней, стеблей, листьев).

Известные достижения в объяснении влияния растений на микрофлору почвы в основном относятся к травянистой растительности. Сведения же в отношении древесных пород весьма скудны.

Под пологом леса создается своеобразная обстановка почвообразования. Морозов [11] выделяет три момента, определяющие роль леса как почвообразующего фактора: это, во-первых, вся совокупность деревьев с ее пологом наверху, с корневой системой внизу и со своей физиологической деятельностью, во-вторых — подстилка и процессы ее разложения и, в третьих, метеорологические условия, которые создаются под сенью леса. По учению Сукачева [12, 13, 14], движущей силой почвообразования под лесом является весь лесной биогеоценоз, в котором постоянно происходит обмен веществ и энергии. При этом ведущая роль принадлежит растительности, жизнедеятельность которой обуславливает возникновение внутренних противоречий между растительностью и средой, в результате чего происходит изменение геоценоза, его развитие, его самодвижение.

При оценке преобразующего воздействия леса на почву Морозов особое внимание обращает на значение подстилки, на ее громадное и разнообразное влияние. Он рассматривает подстилку как новую биологическую среду, созданную лесом.

Основная масса подстилки образуется из опавших листьев и хвои. Сброшенный на почву лист вызывает в ней изменения не только продуктами разложения своего тела, но

и веществами, вымываемыми атмосферными осадками еще до начала процесса минерализации.

В 1928—1929 гг. Токиным [15] были обнаружены фитонциды. С тех пор, благодаря в основном трудам советских ученых, разработка проблемы фитонцидов шагнула далеко вперед. Имеющиеся материалы говорят о большой роли фитонцидов в природе. По обсуждаемому нами здесь вопросу данных еще очень мало.

Мелин (Melin [16]) изучал влияние водных вытяжек из опада (листьев, хвои) березы, бука, вяза, дуба, осины, сосны, а также из остатков (стеблей и листьев) манника (Glyceria maxima) на рост грибов: 17 видов гименомицетов, два — гастромицетов, один аскомицет; среди них были микоризообразователи и подстилочные сапрофиты. Листья и хвоя собирались осенью, во время листопада, остатки манника — весной, после таяния снега.

Грибы по-разному реагировали на экстракты из опада. Микоризообразующие грибы проявили высокую чувствительность; большие дозы задерживали и угнетали их развитие, малые же — стимулировали. Фунгистатические свойства экстрактов зависели от породы опада.

В противоположность микоризообразующим, подстилочные сапрофитные грибы не подавлялись экстрактами, наоборот — последние способствовали их росту. Вытяжка из манника стимулировала рост всех грибов.

Винтер и Виллеке (Winter u. Willeke [17]) не обнаружили угнетения Bac. subtilis. E. coli, Staph, aureus водными мацератами опавших листьев березы, бука, грецкого ореха, дуба, ивы, каштана, клена, лещины, липы и ольхи. Авторы не упоминают об условиях сбора опада.

В настоящем сообщении приводятся первые данные предпринятых нами исследований о влиянии опада различных древесных и кустарниковых пород на формирование специфического микробного ценоза в лесных почвах. Исследования осуществлены на Деркульской опытной лесной станции Института леса Академии наук СССР, расположенной в Ворошиловградской области. Почвенный покров района станции представлен слабо выщелоченными на возвышенных водоразделах и в остальной части малогумусными, маломощными карбонатными черноземами.

Осенью 1952 г. в лесных полосах были собраны и высушены опавшие, не подвергавшиеся воздействию атмосферных осадков листья шести пород: акации желтой (Caragana arborescens Lam.), береста (Ulmus campestris L.), дуба (Quercus robur L.), жимолости (Lonicera tatarica L.), клена (Acer platanoides L.), ясеня (Fraxinus excelsior L.); в дальнейшем из них получались водные вытяжки и изучалось влияние последних на микрофлору чернозема. Образцы почвы брались из-под целинной степи на глубине до 20 см.

Методика

Мелко измельченные листья заливались дестиллированной водой в отношении 1 : 6. После 20-часового настаивания при комнатной температуре жидкость декантировалась и профильтровывалась через несколько слоев марли. Нейтрализованный фильтрат после стерилизации в автоклаве (20 минут при 0,5 атм.) добавлялся из расчета 2 мл на 15 мл агаризованной среды

При стерилизации действующее начало фильтратов не разрушается. Об этом свидетельствуют сравнительные опыты с вытяжками, стерилизованными в автоклаве и пропущенными через фильтры Зейтца. В последнем случае в силу высокой коллоидальности вытяжек фильтрование протекает весьма замедленно. Возможно, это обстоятельство вызывает некоторую инактивацию фильтратов вследствие адсорбции действующего начала. Автоклавированные вытяжки из опада всех исследованных пород, как правило, обладают повышенной эффективностью. В табл. 1 и 2 показаны примеры влияния одних и тех же вытяжек, обеспложенных различными способами, на бактерии черноземной почвы в посевах на МПА и на отдельные культуры актиномицетов по методу «колодца» (Данини [12]).

Наши данные совпадают с наблюдениями Мелина о термоустойчивости действующего начала экстрактов из опада.

Активность автоклавированных вытяжек зависит до известной степени от исходной реакции. Стерилизация вытяжек без предварительной их нейтрализации приводит к снижению их угнетающего действия.

Нами проводились параллельные посевы почвы на разные среды — контрольные и с фильтратами, по схеме, принятой лабораторией почвенной микробиологии Института микробиологии Академии наук СССР. Микроорганизмы учитывались на мясо-пептонном, крахмально-аммиачном, сусло-мясо-пептонном агарах и подкисленном сусло-агаре.

Таблица 1

Действие автоклавированных и фильтрованных вытяжек из опада на бактерии черноземной почвы

(Посев на МПА)

Вытяжки из опада		Общее число бактерий в тыс. на 1 г абсолютно сухой почвы
Контроль		5747
Дуба	З	416
	С	0
Клена	З	221
	С	0
Береста	З	2574
	С	949
Акации	З	5265
	С	1235

Примечание. З — фильтрование через фильтр Зейтца; С — стерилизация в автоклаве.

Таблица 2

Действие автоклавированной и фильтрованной вытяжек из опада клена на актиномицеты черноземной почвы

Культуры	Стерилизация в автоклаве	Фильтрование через фильтр Зейтца
102	+++	++
105	+	+
106	++	++
107	+++	++
110	++	++

Примечание. +, ++, +++ степень угнетающего действия вытяжек по зонам подавления роста.

Результаты исследований

На рисунке и в табл. 3 приводятся данные, характеризующие воздействие экстрактов из опада на микрофлору почвы.

Таблица 3

Действие вытяжек из опада на микрофлору черноземной почвы

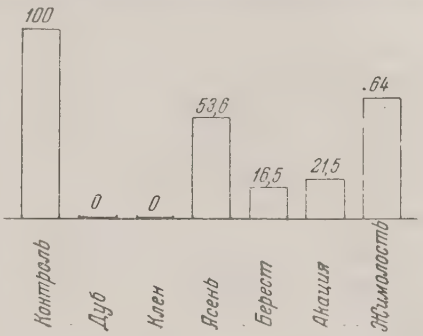
(Количество микробов в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы)

Вытяжки из опада	Не образующие споры бактерии	Спорообразующие бактерии	Актиномицеты	Микроскопические грибы
Контроль	5041	2197	4264	34,7
Дуба	0	0	0	35,4
Клена	0	0	0	38,3
Ясеня	2522	1157	936	35,7
Береста	202	988	0	46,1
Акации	611	1092	195	42,2
Жимолости	3172	1430	299	46,7

Вытяжки подавили развитие бактерий и актиномицетов. Наибольшее действие оказывают экстракты из листьев дуба и клена и наименьшее — из ясеня и жимолости. Актиномицеты по сравнению с бактериями обладают повышенной чувствительностью, микроскопические же грибы явно выделяются своей устойчивостью (табл. 3 и 4).

Активность вытяжек в отношении микроскопических грибов была проверена методом «колодца» на выделенных из различных образцов чернозема 23 культурах: 12 — из рода Penicillium, четыре — Aspergillus, четыре — Trichoderma, две — Fusarium, одна — Alternaria.

Результаты были отрицательными. Более того, грибы росли непосредственно на экстрактах без признаков подавления; наоборот, в ряде случаев отмечалась стимуляция развития. Таким образом, микроскопические грибы ведут себя аналогично подстилочным сапрофитам в опытах Мелина; невольно напрашивается мысль, не кроется ли здесь одна из причин процветания грибной флоры в лесных почвах.



Изменение общего числа бактерий под влиянием опада (МПА)

Отношение отдельных бактериальных видов к вытяжкам неодинаково (табл. 5 и 6).

Особую чувствительность к фитонцидным веществам обнаруживают желтопигментные бактерии типа Ps. herbicola, среди спороносных бактерий — Bac. agglomeratus. Помимо того, ясно выступают различия в повеТаблица 4

Действие вытяжек из опада на микроскопические грибы

(Количество грибов в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы)

Вытяжки из опада	Aspergillus	Fusarium	Mucor	Penicillium	Trichoderma	Аспорогенные
Контроль	0	3,5	0	26,6	2,6	0,6
Дуба	0	3,9	0,3	28,2	3,2	0,6
Клена	0,3	1,6	1,3	34,4	0,3	0,3
Ясеня	0	3,9	0	28,8	3,2	0
Береста	0	4,2	0,6	39,3	1,9	0
Акации	0	2,6	0,6	39,0	0,3	0
Жимолости	0,3	4,2	1,3	40,9	0	0,3

дении не образующих спор и спороносных бактерий. Так, в присутствии вытяжки из опада береста исчезли флюоресцирующие бактерии и микобактерии, из спорообразующих форм — Bac. mesentericus, Bac. cereus, Bac. agglomeratus, но зато остались в относительно большом количестве Bac. megatherium и Bac. idosus.

Таким образом, уже приведенные выше факты о наличии в опаде древесно-кустарниковых растений веществ, действующих на актиномицеты и бактериальную флору почвы, о неодинаковой степени влияния опада разных пород позволяют говорить и о многообразии селекционирующей роли опада.

В природных условиях фитонциды в листьях долго не задерживаются. Вследствие лабильности они быстро вымываются и подвергаются разложению.

Мы исследовали сравнительное действие на микрофлору почв (из-под степи и из-под лесного питомника) экстрактов из опада дуба и двух слоев подстилки, взятой в середине лета из чистого дубового насаждения — верхнего слоя из неразложившихся листьев дуба (A_0^{I}) и разлагающегося слоя (A_0^{II}) (табл. 7 и 8).

По сравнению со свежим опадом содержание фитонцидов в подстилке резко снижается, причем в слое A_0^{II} их больше, нежели в A_0^{I}. В общем вытяжки из подстилки A_0^{I} в какой-то мере подавляют актиномицеты и не образующие спор бактерии; для спороносных же бактерий характерна устойчивость к вытяжкам из подстилки.

Таблица 5

Действие вытяжек из опада на отдельные группы не образующих споры бактерий

(Количество бактерий в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы)

Вытяжки из опада	Флуоресцирующие бактерии	Желтопигментные бактерии типа Ps. herbicola	Микобактерии
Контроль . .	650	65	234
Дуба	0	0	0
Клена . . .	0	0	0
Ясеня	182	0	91
Береста . . .	0	0	0
Акации . . .	130	0	169
Жимолости . .	390	0	117

Об исчезновении фитонцидов в подстилке свидетельствуют также опыты с чистыми культурами микробов, выделенными из почвы (из-под степи).

При определении фитонцидной активности экстрактов из опада дуба и подстилки по методу «колодца» зоны подавления роста были установлены только в нескольких культурах актиномицетов с экстрактами из O^{I} (табл. 9).

Особенности действия опада различных пород на микрофлору почвы находят свое отражение во влиянии экстрактов на отдельные микроорганизмы, изолированные из степной почвы при испытании по методу «колодца» (табл. 10).

Таблица 6

Действие вытяжек из опада на спорообразующие бактерии

(Количество бактерий в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы)

Вытяжки из опада	Bac. mesentericus	Bac. megatherium	Bac. cereus	Bac. idosus	Bac. agglomeratus
Контроль . . .	78	234	78	1742	52
Дуба	0	0	0	0	0
Клена	0	0	0	0	0
Ясеня	13	195	26	879	26
Береста . . .	0	117	0	706	0
Акации . . .	39	78	26	919	0
Жимолости . .	26	104	65	1235	0

Как мы видим, в общем у актиномицетов чувствительность к вытяжкам выше, чем у бактерий. Среди бактерий и актиномицетов наблюдаются градации чувствительности и устойчивости. По степени воздействия на микроорганизмы отличаются вытяжки из опада клена и дуба. Судя по реакции актиномицетов, опад дуба по активности стоит на втором месте.

Интересно отношение азотобактера (Azotobacter chroococcum) к вытяжкам. На него сильно действуют вытяжки из опада клена, затем дуба. Кроме того, азотобактер, в отличие от других испытанных микроорганизмов, обнаруживает явную чувствительность к опаду ясеня. Для опада береста отмечается избирательное угнетение, а для опадов акации и жимолости — отсутствие подавления роста (табл. 11).

В заключение остановимся на влиянии вытяжек из опада разных пород на бактерии и актиномицеты, изолированные из верхнего слоя почвы

Таблица 7

Действие вытяжек из опада дуба и подстилки дубового насаждения на микрофлору почвы

(Количество микробов в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы)

Почва	Вытяжки из	Не образующие споры бактерии	Спорообразующие бактерии	Актиномицеты	Микроскопические грибы
Степная	Контроль	2562	1568	811	29,1
	Опада дуба	19	215	0	36,2
	Подстилки A_0^I	1121	1381	124	31,0
	Подстилки A_0^{II}	1651	1444	694	42,0
Из питомника	Контроль	5371	1728	1200	44,4
	Опада дуба	132	48	0	40,2
	Подстилки A_0^I	2226	2100	576	19,2
	Подстилки A_0^{II}	2340	1512	1256	28,8

Таблица 8

Действие вытяжек из опада дуба и подстилки дубового насаждения на не образующие споры бактерии

(Количество бактерий в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы)

Почва	Вытяжки из	Флуоресцирующие бактерии	Желтопигментные бактерии типа Ps. herbicola	Микобактерии
Степная	Контроль	526	15	170
	Опада дуба	0	0	0
	Подстилки A_0^I	259	0	188
	Подстилки A_0^{II}	379	0	96
Из питомника	Контроль	192	82	792
	Опада дуба	0	0	60
	Подстилки A_0^I	220	0	528
	Подстилки A_0^{II}	194	0	300

дубового насаждения в возрасте около 20 лет. Определения осуществлялись по методу «колодца» (табл. 12).

Микроорганизмы лесной почвы из-под дубового насаждения по сравнению с микробами из степной почвы (табл. 10) оказались устойчивее к экстрактам из опада дуба. С другой стороны, эти же организмы отзывались на вытяжки из опада клена. Создается впечатление определенной приспособленности микроорганизмов к среде обитания. Отсюда вырисовывается своеобразие микробных ценозов в лесных почвах.

Таблица 9

Действие вытяжек из опада дуба и подстилки дубового насаждения на микроорганизмы

Микроорганизмы	Число культур				Средний диаметр зоны подавления роста в мм	
	испытанных	давших зоны подавления роста				
		опад	Ao^I	Ao^{II}	опад	Ao^I
Флуоресцирующие бактерии	1	1	0	0	13	0
Bac. agglomeratus	3	2	0	0	25	0
Bac. cereus	6	4	0	0	14	0
Bac. idosus	7	7	0	0	21	0
Bac. megatherium	4	4	0	0	18	0
Bac. mesentericus	2	2	0	0	11	0
Bac. virgulus	1	0	0	0	0	0
Актиномицеты	16	15	10	0	30	17

Примечание. 0 — отсутствие действия.

Таблица 10

Действие вытяжек из опада на культуры микроорганизмов, выделенные из степной почвы

Культуры	Микроорганизмы	Вытяжка из опада					
		дуба	клена	ясеня	береста	акации	жимолости
1	Флуоресцирующие бактерии	++	++	++	++	++	++
2	» »	+	+	±	+	0	0
15	» »	+	+	0	±	0	0
69	Bac. agglomeratus	±	+	0	0	0	0
65	Bac. cereus	+	+	0	0	0	0
58	Bac. idosus	±	+	0	0	0	0
52	Bac. megatherium	±	±	0	0	0	0
63	Bac. mesentericus	+	+	0	0	0	0
51	Bac. virgulus	+	+	0	0	0	0
101	Актиномицеты	+	++	±	+	0	0
102	»	++	+++	+	+	0	0
104	»	+	++	0	0	0	0
105	»	0	+	0	0	0	0
106	»	++	+++	±	++	0	0
107	»	++	+++	±	+	0	0
108	»	++	++	0	0	0	0
109	»	++	++++	+	++	0	±
110	»	++	+++	++	++	0	0
111	»	+	+++	±	++	±	±
112	»	++	+++	+	+	0	+
113	»	±	+	0	0	0	0
115	»	+	++	0	0	0	0
116	»	+	++	0	0	0	0
117	»	+	++	0	0	0	0
120	»	0	+	0	0	0	0
121	»	+	+++	+	+	0	0

Примечание. 0 — отсутствие действия; ± — наличие зоны разреженного, заторможенного роста; +, ++, +++, ++++ — степень угнетающего действия вытяжек по зонам подавления роста.

Таблица 11

Действие вытяжек из опада на культуры азотобактера, выделенные из черноземных почв

(Диаметр зоны подавления роста в мм)

Культуры	Вытяжки из опада					
	дуба	клена	ясеня	береста	акации	жимолости
1	20	28	15	0	0	0
2	20	24	14	0	0	0
3	21	25	18	18	Ст.	Ст.

Примечание. 0 — отсутствие действия; ст — стимуляция роста.

Таблица 12

Действие вытяжек из опада на микроорганизмы, выделенные из почвы из-под дубового насаждения

Микроорганизмы	Число культур						
	испытанных	давших зоны подавления роста					
		дуб	клен	ясень	берест	акация	жимолость
луоресцирующие бактерии	2	1	1	0	0	0	0
елтопигментные бактерии типа Ps. herbicola	2	0	0	0	0	0	0
икобактерии	5	0	3	0	0	0	0
ac. agglomeratus	2	0	0	0	0	0	0
ac. cereus	3	0	1	0	0	0	0
ac. idosus	5	3	4	0	0	0	0
ac. megatherium	5	2	3	0	0	0	0
ac. mesentericus	5	2	1	0	0	0	3
ac. mycoides	2	0	0	0	0	0	0
ктиномицеты	12	3	11	2	4	0	0

Выводы

1. Опад древесно-кустарниковой растительности является одним из елекционирующих факторов в создании своеобразных микробных ценов в лесных почвах.
2. Степень влияния опада разных пород древесно-кустарниковой растительности на микрофлору почвы различна.
3. Опад содержит подвижные, легко вымываемые вещества, действующие на актиномицеты и бактериальную флору почвы. Микроскопические же грибы устойчивы к этим веществам.

Институт леса
Академии наук СССР
Москва

Получено 27. V. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вильямс В. Р. Почвоведение. 1949.
2. Данини Е. М. Элементарные методики изучения антибактериальных свойств фитонцидов высших растений. Сб. «Фитонциды, их роль в природе и значение для медицины». 1952.

3. Докучаев В. В. Место и роль современного почвоведения в науке и жизни. Избр. соч., III, стр. 336, 1949.
4. Красильников Н. А. О взаимодействии микроорганизмов почвы с растениями. Природа, 3, 1941.
5. Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на микробный состав в почве. Микробиология, XIII, вып. 5, 1944.
6. Красильников Н. А. О взаимоотношениях почвенной микрофлоры с высшими растениями. Тр. конфер. «Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве». 1952.
7. Красильников Н. А. Микроорганизмы и плодородие почвы в свете учения В. Р. Вильямса. Агробиология, 6, 1952.
8. Красильников Н. А. Микроорганизмы и плодородие почв. Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 1954.
9. Мишустин Е. Н. Учение Докучаева — Костычева — Вильямса о почве и вопрос о составе микроорганизмов в растительных формациях. Микробиология, XIX, вып. 1, 1950.
10. Мишустин Е. Н. Закон зональности и учение о микробных ассоциациях почвы. Усп. совр. биологии, 37, вып. 1, 1954.
11. Морозов Г. Ф. Учение о лесе. 1949.
12. Сукачев В. Н. Основы теории биогеоценологии. Юбил. сб. к XXX-летию Великой Октябрьской социалистической революции. 1947.
13. Сукачев В. Н. Советское направление в фитоценологии. Вестн. АН СССР, вып. 2, 1948.
14. Сукачев В. Н. О комплексном методе изучения биологических и физико-географических явлений в народнохозяйственных целях. Научная сессия по вопросам биологии и сельского хозяйства. 1953.
15. Токин Б. П. Фитонциды. 1951.
16. Melin E. Der Einfluss von Waldstreuextrakten auf das Wachstum von Bodenpilzen, mit besonderer Berücksichtigung der Wurzelpilze von Bäumen. Symbol. Bot. Upsalienses, 8, 1946.
17. Winter A. G. u. Willeke L. Untersuchungen über Antibiotica aus höheren Pflanzen. IV. Hemmstoffe im herbstlichen Laub. Naturwiss., Jg. 39, Hft. 2, 1952.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЗОТОБАКТЕРИНА, ПРИГОТОВЛЕННОГО НА САПРОПЕЛЕ

Н. А. Полянский

Для того чтобы азотобактер мог проявить свою роль как азотофиксатор, он нуждается в органическом веществе.

Шелоумова, Евгеньева, Зиновьева, Менкина и Черняк [1] проводили опыты с применением торфа в качестве субстрата для развития азотобактера. Авторы делают вывод, что торф сам по себе является хорошей средой для азотобактера. Они пишут: «Несмотря на то, что торф служит хорошим субстратом для азотобактера, богатство плесеней и большое содержание азота в самом торфе заставили нас искать другой субстрат». Мишустин для изготовления азотобактерина рекомендует использовать в качестве субстрата почву. В настоящее время лаборатории бактериальных удобрений в большом количестве изготовляют почвенный агаровый и торфяной азотобактерин.

В 1951—1953 гг. нами были поставлены опыты по применению сапропелей в качестве субстрата для развития азотобактера. При этом было установлено, что сапропель является хорошей средой для развития этого микроорганизма.

Известно, что развитие азотобактера находится в большой зависимости и от целого ряда внешних факторов, как температура, влажность, наличие фосфора и кальция в сапропеле и др. Лучше всего развивается азотобактер при pH 6,5—7,8. Имеются указания на то, что кальций оказывает благоприятное воздействие на развитие азотобактера.

Сапропели, как известно, содержат гумуса от 20 до 40%, азота от 0,3 до 3,0%, фосфорной кислоты от 0,25 до 5,16%, окиси калия от 0,22 до 1,0%, окиси кальция от 0,98 до 40%, магний, железо и другие элементы. Исключительно большое значение для процессов связывания азота в сапропеле при помощи азотобактера имеет аэрация. Поэтому частое перемешивание сапропеля благоприятно действует на процессы связывания азота. Температура для развития азотобактера в сапропеле должна быть 20—25°. Такую температуру можно создать в условиях любого колхоза или совхоза.

В лаборатории Первого государственного завода бактериальных удобрений им. В. М. Молотова, Ленинского района, Московской области, нами были проведены опыты с изготовлением азотобактерина на сапропеле. Для этого был взят сапропель из пруда хозяйства «Красный маяк», Ленинского района, Московской области. В естественном состоянии сапропель имел pH 6,0. Для нейтрализации среды к сапропелю был добавлен мел в количестве 5 г на 1 кг сапропеля, в результате чего pH было доведено до 7,0.

Для улучшения физических свойств и аэрации сапропеля к нему был добавлен песок в соотношении 2 : 1. Приготовленный субстрат увлажнялся до 39% от полной влагоемкости.

В подготовленный субстрат вносилась трехсуточная культура Azotobacter chroococcum № 53, выращенная в кюветах на агаризованной среде Эшби. Культура вносилась в виде водной, хорошо размешанной болтушки, из расчета 50 см³ или двух клеток культуры азотобактера на 1 г субстра-

та. Субстрат при этом хорошо перемешивался. После внесения культуры в субстрат полученная смесь оставлялась на трое суток в термостате при температуре 22—25°. Смесь ежедневно перемешивалась.

После инкубации производился подсчет количества клеток азотобактера в 1 г препарата.

Результат микробиологического подсчета приводится в табл. 1.

Таблица 1

Содержание клеток азотобактера в 1 г сапропеля

Исследованные образцы	Количество колоний в разведении 1 : 10 млн.	Количество колоний в разведении 1 : 100 млн.	Средний титр клеток в 1 г (сапропеля (в млн.)
Сапропель (контроль)			
1-я повторность	Отсутствует	Отсутствует	—
2-я „ (контроль)	„	„	—
3-я „ (контроль)	„	„	—
Сапропель + азотобактер			
1-я повторность	26—37	3—4	260—300
2-я „	18—19	2—2	200—
3-я „	12—16	3—1	200

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что в сапропеле имеются благоприятные условия для развития азотобактера.

Проведенными химическими анализами на наличие общего азота в сапропеле установлено, что азотобактер увеличивает в нем содержание азота на 0,56—0,78% (табл. 2).

Таблица 2

Содержание общего азота в сапропеле

№ колбы	Варианты опытов	Общий азот %			Прибавка азота в % от азотобактера
		1-я повторность	2-я повторность	Среднее из двух повторностей	
	Из пруда колхоза „Большевик“				
1	Сапропель (контроль)	0,56	0,54	0,55	—
2	Сапропель + азотобактер	1,17	1,19	1,18	0,63
3	Сапропель (контроль)	0,42	0,36	0,39	—
4	Сапропель + азотобактер	1,16	1,18	1,17	0,78
	Из пруда „Красный маяк“				
5	Сапропель (контроль)	0,53	0,60	0,56	—
6	Сапропель + азотобактер	1,16	1,17	1,16	0,59
7	Сапропель (контроль)	0,58	0,54	0,56	—
8	Сапропель + азотобактер	1,08	1,10	1,09	0,56

Эти данные имеют большое значение, так как они показывают возможность обогащения сапропеля азотом при помощи азотобактера.

Эффективность азотобактерина и фосфоробактерина, изготовленных на сапропеле

Наряду с лабораторными исследованиями нами проведены вегетационные и полевые опыты по применению азотобактерина, приготовленного на сапропеле, под овес.

Сапропель для опыта применялся из пруда опытной станции «Красный маяк», Ленинского района, Московской области.

Обычно бактериальными удобрениями — азотобактерином и фосфоробактерином обрабатывают (заражают) семена перед их высевом в почву. В нашем опыте культуры азотобактера и восстанавливающих фосфаты бактерий вносились в жидком виде в сапропель, который инкубировался 30 дней при температуре 18—20° при хорошей аэрации. После месячной инкубации сапропель подсушивался. Влажность воздушносухого сапропеля в момент внесения его в почву была 25%.

Для закладки вегетационного опыта взята почва с полевого участка опытной станции «Красный маяк» (на сосуд бралось по 6 кг почвы). Количество сапропеля вносилось, исходя из процентного содержания в нем азота (1 г азота на сосуд). Опыты были поставлены с овсом. Посев был проведен 25 мая по 30 зерен на сосуд. После вторичной прорывки было оставлено по восьми растений на сосуд. Поливка растений производилась дестиллированной водой, которая добавлялась по весу до 60% от полной влагоемкости. Уход и наблюдение за растениями — обычные.

Фенологические наблюдения показали медленное созревание овса по варианту сапропеля, зараженного азотобактером, и восстанавливающими фосфаты бактериями.

Эффективность бактериальных удобрений на урожай овса показана в табл. 3.

Таблица 3

Результаты опытов с посевом овса с применением азотобактерина и фосфоробактерина, приготовленного на сапропеле

Варианты опыта	Урожай овса, в граммах на сосуд	
	общий урожай, средний из двух параллельных	урожай зерна, средний из двух параллельных
Фосфоробактерин (контроль) . .	17,4	5,2
Азотобактерин (контроль)	10,0	4,6
Сапропель (контроль)	24,0	14,1
Азотобактерин, приготовленный на сапропеле	26,6	16,5
Азотобактерин и фосфоробактерин, приготовленные на сапропеле	35,3	21,3

Из табл. 3 видно, что действие изготовленных на заводе бактериальных препаратов азотобактерина и фосфоробактерина на урожай овса было положительным. Азотобактерин, изготовленный на сапропеле, дает значительное увеличение урожая овса.

Самое высокое увеличение урожая овса получено от применения сапропеля, зараженного азотобактером и восстанавливающими фосфаты бактериями. Здесь наиболее сильное действие на минерализацию органического вещества сапропеля оказали фосфатвосстанавливающие бактерии. При этом наибольший эффект получается при заражении азотобактером не семян, а вносимого как удобрение сапропеля.

Таблица 4

Влияние гранулированных и бактериальных удобрений на урожай клубней картофеля на опытной станции „Красный маяк"

Варианты опыта	1-я повторность в ц/га	2-я повторность в ц/га	Среднее из двух повторностей	Прибавка в ц/га
Без удобрений	278,4	256,6	267,5	—
Суперфосфат гранулированный, 52 кг на гектар	285,0	273,0	279,0	12,5
Азотобактерин (заводский препарат)	283,0	265,0	274,0	6,5
Суперфосфат гранулированный, 52 кг на гектар, + азотобактер (сапропелевый препарат)	306,7	267,7	287,2	19,2
Гранулы, 156 кг (сапропель — 104 кг + суперфосфат — 52 кг) на гектар	306,0	274,0	290,0	23,5
Гранулы 156 кг (сапропель — 104 кг + суперфосфат — 52 кг + азотобатер) на гектар . .	329,0	292,0	310,5	43,0

В полевых опытах, проведенных в 1953 г. на опытной станции «Красный маяк» и в колхозе «Большевик», Ленинского района, Московской области, изучалось влияние органо-минеральных гранул и азотобактера на урожай картофеля. Сапропель для изготовления гранул брался из пруда опытной станции «Красный маяк». Опыты проведены на высоком агротехническом уровне, в существующих в хозяйствах севооборотах, в двухкратной повторности, размер делянок 500 км². Сорт картофеля — «Лорх».

Во всех вариантах опыта минеральные (суперфосфат) и органо-минеральные гранулы вносили в борозду при посадке картофеля двухрядной картофелесажалкой. Азотобактерином, изготовленным на сапропеле, заражались клубни картофеля.

Таблица 5

Влияние гранулированных и бактериальных удобрений на урожай клубней картофеля в колхозе „Большевик"

Варианты опыта	1-я повторность в ц/га	2-я повторность в ц/га	Среднее из двух повторностей в ц/га	Прибавка в ц/га
Без удобрений	266,0	244,0	255,0	—
Азотобактерин (заводский препарат)	278,0	258,8	268,4	13,4
Суперфосфат гранулированный, 52 кг на гектар	295,8	260,6	278,2	23,2
Суперфосфат гранулированный, 52 кг на гектар + азотобактер (сапропелевый препарат)	294,5	273,5	284,0	29,0
Гранулы, 156 кг (сапропель — 104 кг + суперфосфат — 52 кг) на гектар	319,0	270,6	294,8	39,8
Гранулы 156 кг (сапропель — 104 кг + суперфосфат — 52 кг + азотобактер) на гектар .	333,8	273,6	303,7	48,7

Гранулированный суперфосфат и органо-минеральные гранулы заражались чистой культурой азотобактера. Сапропель для изготовления удобрения брался в сухом виде с соотношением минеральных удобрений и органических 1 : 2.

Климатические условия для выращивания картофеля были благоприятные. Уборка картофеля на опытных участках проведена 10 сентября.

Эффективность гранулированных и бактериальных удобрений показана в табл. 4 и 5.

Из приведенных в табл. 5 и 6 данных видно, что урожай клубней картофеля увеличился по гранулированному суперфосфату на 12,5—23,2 ц

с гектара, при совместном его внесении (заражении) с применением азотобактерина — на 19,2—29,0 ц с гектара, по органо-минеральному грануляту — на 23,5—39,8 ц с гектара, а при сочетании (заражении) его с азотобактером — на 43,0—48,7 ц с гектара. От заражения клубней картофеля одним азотобактерином получены увеличения клубней картофеля незначительные — только 6,5—13,4 ц с гектара.

Органо-минеральные гранулированные удобрения, изготовленные из сапропеля и суперфосфата с азотобактером и внесенные в борозду вместе с клубнями картофеля, при испытании как в колхозе «Большевик», так и на опытной станции «Красный маяк» показали более высокую эффективность, чем гранулированный суперфосфат.

Выводы

1. Сапропель является хорошим субстратом для изготовления азотобактерина.
2. Азотобактер обладает способностью обогащать сапропель азотом.
3. Азотобактерин и фосфоробактерин, приготовленные на сапропеле, дают значительные увеличения урожая овса и картофеля.

Получено 10. VII. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шелоумова А., Евгеньева П., Зиновьева Х., Менкина Р. и Черняк С. Применение азотобактера как бактериальное удобрение под небобовые растения. Тр. Ин-та с.-х. микробиологии, VI, вып. 1, 1935.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ АКТИНОМИЦЕТОВ-АНТАГОНИСТОВ В ПОЧВАХ КОЛЬСКОГО ПОЛУОСТРОВА

А. И. Кореняко, А. Г. Кучаева и *И. Е. Мишустина*

Известно, что актиномицеты широко распространены в природе. По данным Красильникова [2], актиномицеты составляют от 5 до 70% общего числа микроорганизмов в почве.

Многие авторы (Красильников, [2], Рыбалкина [5], Перлман, Perlman [6], Рем, Rhem [7]) считают, что столь широкое распространение актиномицетов обусловлено их неприхотливостью в выборе питания и широким набором ферментов. Ряд ценных антибиотиков — стрептомицин, биомицин, террамицин, альбомицин и др., которые широко вошли в медицинскую практику, продуцируются актиномицетами. Нет сомнения в том, что, кроме продуцентов указанных антибиотиков, среди актиномицетов имеются культуры, образующие не менее ценные вещества. Поэтому большое внимание в последнее время уделяется изысканию среди актиномицетов продуцентов новых антибиотиков.

Познание закономерностей распространения актиномицетов-антагонистов в природе и особенно в почве является необходимой предпосылкой для изыскания продуцентов антибиотиков. Следует отметить, что сведения в этом направлении очень ограничены. Имеются лишь единичные указания на особенности распространения актиномицетов в почвах.

Наиболее подробные указания мы находим в работах Красильникова и его сотрудников [4]. Эти авторы установили, что степень распространения актиномицетов-антагонистов в разных почвах различна и зависит от механического и химического состава почвы, от степени ее окультуренности, засоленности, от растительного покрова и т. д. В итоге своих исследований авторы отмечают, что степень распространения актиномицетов-антагонистов обусловлена не столько географическими факторами, сколько экологическими. Как продолжение указанных работ нами проведено изучение почв Кольского полуострова. По данным Ивановой и Коносова [1], на Кольском полуострове почвы слабо развиты, примитивны и находятся в начальной стадии формирования, но среди них имеются почвы с хорошо дифференцированным профилем.

Нами обследовались разные почвы — целинные и окультуренные, горные и пойменные, в районе, прилегающем к Полярному ботаническому саду, опытные поля экспериментального участка в районах Апатит, Хибин и Мурманска. Почвы молодые, 4—6 лет разработки, кислые (pH водной вытяжки 4,5—5,0).

При изучении почв Кольского полуострова ставилась задача установить зависимость распространения актиномицетов-антагонистов по отношению Bact. coli и Staph. aureus (№ 209) от особенностей почв, степени их окультуренности, а также влияния хранения образцов почв долгое время в лабораторных условиях на состав микрофлоры.

В своей работе мы пользовались методикой, описанной Красильниковым [3]. Образцы почвы для анализов брались в июле-августе, в самый разгар вегетации растений. Образцы, как правило, обрабатывались в день взятия пробы и затем спустя два-три месяца в трех повторностях. Учитывался общий состав микрофлоры: бактерии и грибы на МПА, актиномицеты на среде Чапека. Все выросшие актиномицеты выделялись

на картофельный агар. Антагонистическая способность актиномицетов определялась по отношению тест-микробов Bact. coli и Staph. aureus. Блоки семисуточной культуры актиномицета, выращенного на картофельном агаре, накладывались на свежевысеянный газон тест-микроба; после 24 часов инкубации в термостате при 37° производился учет антибиотической способности актиномицетов на основании наличия или отсутствия роста тест-культуры вокруг блока. Данные о количестве микроорганизмов вообще и актиномицетов в частности в исследованных образцах почв представлены в табл. 1.

Таблица 1

Количество микроорганизмов в почвах Кольского полуострова

Почвы	Число обработанных образцов	Среднее число клеток в тысячах на 1 г почвы		
		бактерий	грибов	актиномицетов
Примитивные почвы склона горы Тахтарчорр, высота 1100 м	38	92	38	5
Примитивные почвы склона горы Вудяворчорр, высота 900 м	18	74	21	11
Железистый подзол, шестой год обработки	45	560	26	60
Гумусо-железистый подзол, пятый год обработки	31	607	16	30

Из таблицы видно, что неокультуренные почвы горных массивов Кольского полуострова бедны микрофлорой. Общее количество бактерий насчитывается десятками и сотнями тысяч клеток в 1 г почвы. Еще меньше в исследованных почвах актиномицетов. В окультуренных почвах значительно больше как актиномицетов, так и бактерий. Следовательно, процесс окультуривания почвы приводит к увеличению общего состава микробного населения. Так, если общее количество бактерий в неокультуренных почвах составляет от 74 до 92 тыс/г, то в окультуренных их находится до 607 тыс. в 1 г.

Таблица 2

Средние данные количества актиномицетов-антагонистов в окультуренных и неокультуренных почвах

Почвы	Число обследованных образцов	Число образцов, в которых обнаружены актиномицеты	Число выделенных актиномицетов в тыс. на 1 г	% антагонистов к	
				Staph. aureus	Bact. coli
Лесотундра	9	Нет	Нет	Нет	Нет
Примитивные, неокультуренные почвы горных массивов	30	8	42	12	7
Железистый подзол, шестой год обработки	26	17	102	86	7
Гумусо-железистый подзол, пятый год обработки	41	26	252	89	8

В табл. 2 мы приводим средние данные количества актиномицетов в окультуренных и неокультуренных почвах и процент антагонистов среди них.

Как видно из этой таблицы, в лесотундре актиномицетов-антагонистов вообще не обнаружено. В примитивных почвах горных массивов

встречается мало актиномицетов вообще, а антагонисты среди них составляют всего 12%.

В окультуренных же почвах, как в железистом, так и в гумусо-железистом подзолах, актиномицетов значительно больше, процент антагонистов среди них возрастает до 89.

В табл. 3 мы показываем влияние разных видов удобрения на развитие актиномицетов. Как видно из приведенных данных, удобрения благоприятно действуют на развитие микрофлоры вообще и актиномицетов в частности.

Наибольшее количество актиномицетов-антагонистов обнаруживается при внесении навоза, затем следуют минеральные удобрения. Так, например, при прибавлении навоза процент актиномицетов-антагонистов достигает 83, в то время как в неудобренных почвах антагонистов всего 4%.

Приведенные данные подтверждают указание о том, что количество актиномицетов и процент антагонистов связаны не столько с географическими, сколько с экологическими факторами, и в первую очередь с деятельностью человека.

Таблица 3

Количество актиномицетов-антагонистов в зависимости от характера внесенного удобрения

(В тысячах на 1 г почвы из-под культуры картофеля)

Почва	Число обследованных образцов	Число обнаруженных актиномицетов	% антагонистов к	
			Staph. aureus	Bact. coli
Железистый подзол без удобрения	4	29	4	0
Железистый подзол + NPK	4	59	41	1
Железистый подзол + навоз	5	98	83	2
Железистый подзол + известь	3	22	18	0
Гумусо-железистый подзол + навоз	5	46	80	3
Гумусовый подзол + навоз	4	35	82	1

Приведенные данные также показывают, что в процессе окультуривания даже бедные, слабо оформленные почвы становятся более богатыми микрофлорой, в том числе и антагонистами, а вместе с этим и более плодородными.

При обработке почвенных образцов нас также интересовал методический вопрос: как сохраняются актиномицеты-антагонисты в сухих почвах, хранившихся долгое время в лабораторных условиях? Известно, что в сухих образцах почв состав микрофлоры иной, чем в свежих почвах. В процессе высушивания при хранении общее количество микроорганизмов резко уменьшается и изменяются соотношения разных видов.

Собранные нами для анализа образцы почвы после обработки на месте сохранялись в сухом состоянии в лаборатории в течение двух-трех месяцев и затем обрабатывались вторично. Сопоставляя данные анализов свежих и сухих, хранившихся в лаборатории, образцов, мы могли отметить, что при хранении почвы в сухом виде в ней заметно меняется не только количественный, но и качественный состав актиномицетов, причем значительно уменьшается количество антагонистов (табл. 4).

Через два-три месяца хранения многие почвы почти не содержали актиномицетов-антагонистов или содержали их в малом количестве. Так, например, в день взятия пробы на удобренных делянках под картофелем актиномицетов было 189 тыс. в 1 г почвы, из них антагонистов было 86%; после хранения этих же образцов почвы

они содержали актиномицетов 68 тыс. в 1 г, а процент антагонистов снизился с 86 до 5. Аналогичную картину можно наблюдать в образцах почвы под овсом.

Таблица 4

Количество актиномицетов в железисто-подзолистой почве Кольского полуострова в зависимости от срока хранения образцов

Культура	Время хранения образцов в днях	Число обработанных образцов	Число обнаруженных актиномицетов в тыс. на 1 г почвы	Из них антагонистов к Staph. aureus в %
Картофель	1	20	189	86
	90	8	68	5
Овес	24	3	92	15
	96	3	72	4

В дальнейших анализах мы сопоставляли населенность актиномицетами-антагонистами почв разных типов, взятых из разных районов Советского Союза, а именно почв Заполярья, дерново-подзолистых почв Подмосковья и черноземов Молдавской ССР. Исследовались почвы, хранившиеся два-четыре месяца.

При нализе этих почв мы учитывали количество актиномицетов-антагонистов не только по отношению к Staph. aureus и Bact. coli, но и по отношению к фитопатогенным грибам Thielaviopsis basicola, Phomopsis cinerea и Deuterophoma tracheiphilus. Полученные данные приведены в табл. 5.

Таблица 5

Количество актиномицетов-антагонистов в почвах различных районов и типов

Почва	Число испытанных актиномицетов	Из них антагонистов к грибам в %		
		Thielaviopsis basicola	Phomopsis cinerea	Deuterophoma tracheiphilus
Железистый подзол, Кольский полуостров .	476	31	17	41
Подзол, Москва	407	23	16	46
Обыкновенный чернозем, Молдавия	317	43	24	67

Как видно из этой таблицы, актиномицеты, способные подавлять фитопатогенные грибы, в почвах Кольского полуострова обнаруживаются в большом количестве, как и в других исследованных почвах.

В видовом отношении состав актиномицетов-антагонистов в почвах Кольского полуострова менее разнообразен, чем видовой состав мощных черноземов южных районов Советского Союза. Обращает на себя внимание то, что почти во всех образцах, изученных нами из окультуренных почв Кольского полуострова, преобладают актиномицеты-антагонисты из группы Act. globisporus. Последних особенно много в почвах, удобренных навозом. По нашим данным, от 60 до 80% всех антагонистов относятся к указанному виду. Эти цифровые данные получены нами при многократных повторных анализах одних и тех же почв.

Подробное изучение выделенных штаммов актиномицетов показало, что среди культур Act. globisporus мы не нашли ни одного, образующего стрептомицин. Многие из них подавляют рост разных грибов, в том числе и фитопатогенных. Другие активно действуют на стрептомициноустойчивые микобактерии. Следовательно, в почвах Кольского полуострова не обнаруживается Act. globisporus streptomycini. В настоящее время эти культуры подвергаются детальному изучению. В целинных почвах горных массивов в основном обнаруживаются актиномицеты-антагонисты из группы Act. griseus.

Актиномицетов, относящихся к группе Act. violaceus и Act. aurantiacus, мы не обнаружили в почвах Кольского полуострова.

Выводы

1. Неокультуренные почвы Кольского полуострова бедны микрофлорой и особенно актиномицетами.
2. Почвы окультуренные, особенно удобренные навозом, содержат большее количество актиномицетов-антагонистов по сравнению с почвами неокультуренными.
3. Актиномицеты-антагонисты в почвах Кольского полуострова составляют от 10 до 89% ко всему количеству выделенных актиномицетов.
4. В свежеобработанных образцах почвы актиномицетов-антагонистов содержится значительно больше, чем в сухих образцах, хранившихся долгое время в лаборатории.
5. В видовом отношении в окультуренных почвах Кольского полуострова преобладают актиномицеты-антагонисты из группы Act. globisporus, а в почвах горных массивов и целинных встречаются актиномицеты типа Act. griseus.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 10. VI. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванова Е. Н. и Копосов Н. А. Почвы хибинских тундр. Ч. II. Совет по изучению производительных сил, 1937.
2. Красильников Н. А. Актиномицеты, или лучистые грибки, и родственные им организмы. Изд-во АН СССР, 1938.
3. Красильников Н. А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества, Изд-во АН СССР, 1950.
4. Красильников Н. А., Кореняко А. И. и Артамонова О. И. Распространение актиномицетов-антагонистов в почвах СССР. Микробиология, XXII, 3, 1953.
5. Рыбалкина А. В. и Большакова В. С. О физиологических особенностях актиномицетов в некоторых типах почв. Почвоведение, № 8, 733, 1952.
6. Perlman D. Physiological studies on the Actinomycetes. Bot. Rev., 19, 46, 1953.
7. Rhem H. Untersuchungen zur Ökologie, Physiologie und antagonistischen Wirksamkeit von Bodenstreptomyceten. Wiss. Zschr. d. Universität Greifswald, Mathem-Naturwiss, Reihe, Hft. 1,5, 1953—1954.

АКТИНОМИЦЕТЫ-АНТАГОНИСТЫ ПОЧВ СРЕДНЕГО ТЕЧЕНИЯ Р. ЛЕНЫ

Н. С. Егоров и *А. Н. Полин*

Актиномицеты, как возможные продуценты новых антибиотических веществ, имеют большое практическое значение, и вопросу их распространения в природе посвящено большое количество работ у нас в Советском Союзе (Красильников [4, 5], Крисс [6, 7], Гаузе [2]) и за рубежом (Ваксман [1]).

Лучистые грибки встречаются как в почвах юга, так и в почвах средней полосы нашей страны. Они выделяются и из почв Крайнего Севера, например с островов Ледовитого океана. Крисс [6, 7] изучил распространение актиномицетов на о-ве Врангеля, о-ве Колючин и в тундрах Восточной Сибири. Было показано, что, несмотря на относительно большую численность актиномицетов в тундровых почвах, видовой состав их очень беден (от двух до четырех видов).

Огромная территория Советского Союза еще далеко не полностью обследована с точки зрения распространения актиномицетов. Одним из таких районов является территория Якутской АССР, средняя и южная части которой имеют ряд природных особенностей: чрезвычайно резкий континентальный климат, с холодной длинной зимой и очень жарким коротким летом. Почва оттаивает летом на небольшую глубину. Количество осадков, особенно зимой, значительное. Почвы этого района сравнительно бедны органическими веществами. Изучение влияния своеобразных климатических условий на распространение актиномицетов, и в особенности актиномицетов-антагонистов, в почвах этого района представляет несомненный интерес.

Методика

Летом 1952 г. (август — сентябрь), находясь с экспедицией в Якутской АССР, один из авторов работы (Полин) взял пробы различных почв в районе среднего течения р. Лены. Образцы почв отбирались в окружностях г. Витима, г. Качинска и 100—250 км восточнее Якутска.

Было взято четыре образца почв:

А. Окультуренные почвы

1. Поле пшеницы (г. Витим).
2. Картофельное поле колхоза им. В. И. Ленина, Чурапчинского района.

Б. Неокультуренные почвы

1. Заливной луг среди тайги в 250 км восточнее Якутска.
2. Тайга, заросли лиственницы, слой опавшей хвои в 20 см. Поселок Ытык-Кель, Якутской АССР.

Для выделения актиномицетов из почв использовались в начале работы следующие три среды:

1. Вода водопроводная — 1000 мл

K_2HPO_4	— 3,0 г
$MgCO_3$	— 0,3 »
NaCl	— 0,2 »
KNO_3	— 1,0 »
$FeSO_4$	— 0,001 »
Мел	— 0,5 »
Глюкоза	— 20,0 »

2. Среда, отличающаяся от первой тем, что вместо глюкозы добавлялся крахмал в количестве 10 г/л и вместо KNO_3 — $(NH_4)_2SO_4$ в количестве 2,6 г/л.

3. Среда Чапека.

Выделение актиномицетов из почв производилось следующим способом. Агаризированные среды разливались в чашки Петри. Из каждого образца почвы бралась определенная навеска и приготавливались разведения почвы 1 : 100; 1 : 1000; 1 : 10 000. После тщательного размешивания болтушки высевались на застывшую поверхность агаризированной среды, по 0,25 мл на чашку. Посевной материал при помощи стеклянного шпателя распределялся возможно более равномерно по всей поверхности среды. Засеянные чашки выдерживались в термостате при температуре 25—27° в течение 7—10 дней.

Выросшие колонии актиномицетов пересевались в пробирки на синтетическую среду того же состава, на которой был выделен данный организм.

Выделение актиномицетов из образцов почв производилось через два-четыре месяца после взятия проб.

Изучение антагонистических свойств актиномицетов производилось следующим методом. Синтетическая среда (2) в чашках Петри засевалась по всей поверхности изучаемым актиномицетом. Выращивание лучистого грибка продолжалось при температуре 25—27° в течение 5—7 дней, для получения обильного роста актиномицета. Затем стерильным пробочником определенного диаметра вырезались блочки агара с выросшим актиномицетом, которые переносились на МПА в другие чашки Петри, предварительно засеянные тест-микробом. По величине стерильных зон, образующихся вокруг агаровых блочков в течение 24 часов при температуре 37°, судили об антагонистических свойствах изучаемого организма.

Таблица 1

Количество колоний бактерий и актиномицетов при высеве почвы на три разные среды

Среда	Число бактериальных колоний в чашке	Число колоний актиномицетов в чашке
1	98	28
2	83	320
3	101	22

Экспериментальная часть

При использовании синтетической среды (1) для выделения актиномицетов из почвы оказалось, что на этой среде происходит значительное развитие многочисленных колоний почвенных бактерий, а число колоний актиномицетов было невелико. В силу этого первой задачей наших исследований было подыскание подходящей среды для выделения наибольшего количества колоний актиномицетов.

Среда Чапека, где источником углерода была сахароза, оказалась, подобно первой среде, мало пригодной для этих целей. Наилучшие результаты были получены на среде с крахмалом и сернокислым аммонием (2). На этой среде плохо развиваются бактерии и хорошо растут актиноми-

цеты. Влияние состава среды на количество выросших колоний бактерий и актиномицетов представлено в табл. 1.

Из приведенных данных видно, что наиболее подходящей средой для выделения актиномицетов оказалась вторая синтетическая среда, которая и была использована для учета количества актиномицетов во всех образцах почв.

Количество микроорганизмов в различных образцах почв

Из четырех образцов почвы, взятых из различных мест, были выделены бактерии, грибы и актиномицеты. Количественное соотношение этих организмов представлено в табл. 2.

Таблица 2

Количество бактерий, грибов и актиномицетов в различных образцах почвы

(В тысячах на 1 г почвы)

Место взятия почвенного образца	pH почвы	Бактерии	Грибы	Актиномицеты
Поле пшеницы	6,95	48 800	—	3400
Картофельное поле	7,12	29 800	120	1160
Луг	7,09	4 640	1880	80
Тайга	6,00	640	3880	120

Из данных, представленных в табл. 2, видно, что почвы Якутской АССР относительно бедны актиномицетами. Наибольшее количество актиномицетов, которое удалось обнаружить, равняется 3400 тыс. на 1 г почвы. По всей вероятности, такое относительно небольшое количество актиномицетов в указанных почвах объясняется значительной влажностью почв Якутии и сравнительной бедностью их органическими веществами.

Количество грибов и бактерий очень сильно меняется в зависимости от образцов почвы. В почве картофельного поля, наиболее сухой благодаря лучшей аэрации, доминируют бактерии, количество которых доходит до 29,9 млн. на 1 г почвы. В почве луга, более богатой подземными водами, количество бактерий падает до 4,64 млн. В почве тайги, которая является кислой и наиболее влажной из изученных нами образцов, так как лучи солнца не проникают до земли, было найдено наибольшее количество грибов, равное 3,88 млн. на 1 г почвы. Кислая реакция почвы тайги (pH менее 6) мало благоприятна для развития бактерий и актиномицетов.

Видовой состав актиномицетов, выделенных из различных почв среднего течения р. Лены, и их антагонистические свойства

Видовой состав актиномицетов почв изучаемого района оказался довольно бедным. В почвах среднего течения р. Лены было обнаружено лишь шесть видов актиномицетов: Act. griseus, Act. globisporus, Act. albus, Act. rectus, Act. ruber и Act. parvus. При этом три из них (Act. griseus, Act. globisporus и Act. albus) составляют более 90% всех актиномицетов изученных почв. На долю Act. rectus, Act. ruber и Act. parvus приходится менее 10% всех выделенных актиномицетов. Данные по видовому составу актиномицетов, выделенных из изучаемых образцов почв, представлены в табл. 3.

Таблица 3

Количество штаммов различных видов актиномицетов, выделенных из почв среднего течения р. Лены

Всего штаммов	Act. griseus	Act. globisporus	Act. albus	Act. rectus	Act. ruber	Act. parvus
100	45	33	12	6	3	1

Выделенные актиномицеты распределены в различных почвах довольно неравномерно. Два вида, Act. griseus и Act. globisporus, встречаются во всех четырех образцах почвы, Act. albus — в двух (поле пшеницы и картофеля), и три остальных вида (Act. rectus, Act. ruber и Act. parvus) были обнаружены лишь в почве поля пшеницы. Таким образом, в почвах тайги и луга было обнаружено лишь два вида актиномицетов: Act. griseus и Act. globisporus, в почве картофельного поля найдено три вида: Act. griseus, Act. globisporus и Act. albus. Наиболее богатой видами актиномицетов оказалась почва пшеничного поля, из которой выделено шесть видов.

Полученные результаты по распространению актиномицетов в различных образцах почв представлены в табл. 4.

Таблица 4

Распространение различных видов актиномицетов в почвах среднего течения р. Лены

Виды актиномицетов	Всего выделено штаммов	Из почв			
		поля пшеницы	картофельного поля	луга	тайги
Act. griseus	45	8	14	10	13
Act. globisporus . .	33	12	6	8	7
Act. albus	12	4	8	—	—
Act. rectus	6	6	—	—	—
Act. ruber	3	3	—	—	—
Act. parvus	1	1	—	—	—

Изучение антагонистического действия актиномицетов, выделенных из почв среднего течения р. Лены

Определение количества штаммов актиномицетов-антагонистов производилось по отношению к четырем тест-микробам: Bac. mycoides, Bac. subtilis, Staph. aureus (штамм № 209) и Bact. coli. Всего было изучено сто культур актиномицетов; 76 из них (или 76%) оказались антагонистами по отношению к одному или нескольким из четырех вышеуказанных тест-микробов.

Было изучено распределение антагонистов по различным видам актиномицетов, выделенных из изучаемых почв. Полученные данные представлены в табл. 5.

Таблица 5

Количество актиномицетов-антагонистов среди различных видов актиномицетов, выделенных из почв среднего течения р. Лены

Выделено антагонистов всех видов	Из них											
	Act. griseus		Act. globisporus		Act. albus		Act. rectus		Act. ruber		Act. parvus	
	число	%	число	%	число	%	число	%	число	%	число	%
76	39	50,8	21	28,3	9	11,8	5	6,5	2	2,6	—	—

Из табл. 5 видно, что антагонистические свойства различных видов актиномицетов различны. Наибольший процент антагонистов приходится

на Act. griseus (50,8%); на Act. globisporus падает 28,3%, на Act. albus — 11,8%, на Act. rectus — 6,5% и на Act. ruber — 2,6%. Антагонистов среди Act. parvus не обнаружено.

Количество актиномицетов-антагонистов по отношению к общему количеству выделенных актиномицетов связано с характером почвенных образцов. Так, больше всего антагонистов (в процентном отношении от общего числа выделенных актиномицетов) обнаружено в почве тайги и луга, несколько меньше в почве, взятой с поля пшеницы, и еще меньше в почве картофельного поля.

Данные по распространению актиномицетов-антагонистов в различных почвенных образцах представлены в табл. 6.

Таблица 6

Распределение актиномицетов-антагонистов в различных почвенных образцах

Место взятия почвенного образца	Выделено актиномицетов всех видов	Из них оказались антагонистами	
		число штаммов	в % от общего числа
Поле пшеницы	34	24	70,5
Картофельное поле . .	28	18	64,3
Луг	18	16	89,0
Тайга	20	18	90,0

Изучение широты спектра антибактериального действия актиномицетов-антагонистов

При изучении актиномицетов, обладающих антагонистическими свойствами, большой интерес представляет определение широты их антибактериального спектра. Известно, что антагонисты, подавляющие развитие грамотрицательных бактерий, встречаются реже, чем анагонисты, угнетающие рост грамположительных организмов. Как уже отмечалось, в качестве тест-микробов нами были использованы как грамположительные споровые и бесспоровые бактерии (Bac. mycoides, Bac. subtilis, Staph. aureus), так и грамотрицательный организм Bact. coli. Полученные данные приведены в табл. 7.

Таблица 7

Широта антибактериального спектра актиномицетов-антагонистов

Выделено актиномицетов-антагонистов	Действовали одновременно на							
	один микроб		два микроба		три микроба		четыре микроба	
	число	%	число	%	число	%	число	%
76	10	13,2	17	22,4	16	34,2	23	30,2

Данные, представленные в таблице, показывают, что 30,2% изученных актиномицетов угнетают развитие всех четырех видов тест-микробов. Это указывает на то, что актиномицеты-антагонисты, выделенные из почв среднего течения р. Лены, обладают сравнительно широким спектром антибактериального действия.

При изучении антагонистических свойств выделенных актиномицетов по отношению к отдельным тест-организмам оказалось (табл. 8), что среди изученных штаммов встречается большое количество актиномицетов (48, или 63,2%), которые подавляют рост Bact. coli; количества актиномицетов, подавляющих рост грамположительных споровых и бесспоровых тест-микробов, примерно одинаковы.

Таблица 8

Количество антагонистов по отношению к различным тест-микробам

Общее число актиномицетов-антагонистов	Действуют на							
	Bac. mycoides		Bac. subtilis		Staph. aureus		Bact.coli	
	число штаммов	%	число штаммов	%	число штаммов	%	число штаммов	%
76	53	69,7	57	75	53	69,7	48	63,2

Выводы

1. Выделены и изучены актиномицеты из различных образцов почв, взятых из района среднего течения р. Лены.
2. Количество актиномицетов зависит как от окультуренности почвы, так и от ее влажности и кислотности. В неокультуренных кислых и сильно увлажненных почвах (луг и тайга) число зародышей актиномицетов незначительно.
3. В исследованных образцах почв обнаружено относительно небольшое количество актиномицетов. В наиболее богатых в этом отношении образцах было найдено до 3400 тыс. зародышей актиномицетов на 1 г почвы.
4. Преобладающими видами актиномицетов почв среднего течения р. Лены оказались Act. griseus, Act. globisporus и Act. albus, которые составляют до 90% всех выделенных видов актиномицетов.
5. Из 100 выделенных культур актиномицетов 76 штаммов оказались антагонистами, из них 48 организмов (или 63,2%) подавляют рост Bact. coli.
6. Актиномицеты-антагонисты распределены в различных почвах неравномерно. Наиболее высокий процент антагонистов был обнаружен в почве тайги.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Получено 26. VI. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ваксман З. А. Антагонизм микробов и антибиотические вещества (перевод), М., 1947.
2. Гаузе Г. Ф. Лекции по антибиотикам. Изд-во АМН СССР, М., 1953.
3. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, М., 1949.
4. Красильников Н. А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества. Изд-во АН СССР, М., 1950.
5. Красильников Н. А., Кореняко А. И. и Артамонова О. И. Распространение актиномицетов-анатагонистов в почвах. Микробиология, XXII, 1, 1953.
6. Крисс А. Е. Микроорганизмы восточной части Северного Ледовитого океана. Микробиология, XIV, 4, 1945.
7. Крисс А. Е. Микроорганизмы тундровых и полярно-пустынных почв Арктики. Микробиология, XVI, 5, 1947.

ОБ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ ГРИБОВ РОДА PENICILLIUM ИЗ РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ГРУПП

А. Г. Романкова и Ю. П. Кобрина

Изучение антагонистических свойств грибов из рода Penicillium производилось многими исследователями. В результате были найдены определенные виды этого рода грибов, являющиеся антагонистами бактерий.

Поиски видов и штаммов грибов, активно подавляющих возбудителей бактериальных болезней как растений, так и животных, продолжаются и по настоящее время. Изучение больших коллекций грибов со стороны их антагонистических свойств является достаточно трудоемким процессом; поэтому весьма важно несколько облегчить и вместе с тем сократить время для первоначального подбора штаммов грибов, обладающих антагонистическими свойствами. В связи с этим важно было выяснить, имеется ли какая-либо связь между морфологическими признаками грибов и их способностью образовывать определенные антибиотические вещества. В этом направлении нами было исследовано 390 культур Penicillium из различных систематических групп, отличающихся по своей морфологии.

Род Penicillium делится по строению спороносящей кисти на ряд секций, из которых нами были исследованы следующие: Monoverticillata, Biverticillata-symmetrica и Asymmetrica (Курсанов [1], Raper a. Thom [2]). Известно, что пенициллы с одномутовчатым строением кисти относятся к секции Monoverticillata. Пенициллы, имеющие двумутовчатую кисть, относятся к группе Biverticillata symmetrica, если мутовки расположены симметрично вокруг главной оси конидиеносца. Группа же Asymmetrica характеризуется асимметричным расположением мутовок, число которых чаще три.

Определив систематическое положение культур Penicillium, выделенных нами из природных условий (почва, плоды, растительные остатки), мы произвели определение их антагонистических свойств по отношению к Staph. aureus, Bac. subtilis и Bact. coli. С этой целью культуры грибов выращивались 8 дней при температуре 24° на агаризованной среде Чапека с 3%-ным раствором сахарозы. Определение антагонистических свойств производилось по следующей методике: чашки Петри с мясо-пептонным агаром засевались суточной культурой одного из перечисленных тест-объектов. После подсушивания на поверхность среды в чашках помещались вырезанные из центра колоний грибов столбики агара диаметром 7 мм. Через сутки пребывания в термостате при 37° отмечалось наличие или отсутствие зоны торможения роста бактерий и величина этих зон.

Результаты испытания антагонистических свойств 390 культур Penicillium из различных систематических групп представлены в табл. 1.

Полученные результаты отчетливо показали, что наибольший процент антагонистов по отношению к испытанным тест-микробам падает на пенициллы из секции Asymmetrica, причем они подавляют главным образом грамположительные бактерии — Staph. aureus и Bac. subtilis. Только среди пенициллов секции Asymmetrica оказались немногие представители, способные подавлять развитие Bact. coli,— всего 1,8% из 390 культур Penicillium. К видам, угнетающим Bact. coli, относились P. urticae и ряд других видов.

Таблица 1

Антагонистические свойства Penicillium из различных систематических групп

Секции	Число исследованных культур	Процент культур Penicillium, давших зоны угнетения роста		
		St. aureus	Bac. subtilis	Bact. coli
I. Asymmetrica	144	35,9	21,2	1,8
II. Monoverticillata:				
1) Monoverticillata ramigena	115	25,0	0	0
2) Monoverticillata stricta	70	6,6	0	0
III. Biverticillata-symmetrica	61	5,5	0	0
Всего	390	—	—	—

Секция Monoverticillata ramigena по количеству культур с антагонистическими свойствами стоит на втором месте после секции Asymmetrica. Значительно слабее антагонистические свойства выражены у двух других групп — Monoverticillata stricta и Biverticillata symmetrica.

Произведенное исследование большого числа культур и видов из рода Penicillium позволяет сделать следующие выводы.

Выводы

1. Между антагонистическими свойствами и морфологическим строением спороносящей кисти Penicillium имеется коррелятивная зависимость: по мере усложнения в строении кисти грибов антагонистические свойства их повышаются. Это может быть использовано для ускорения процесса первоначального отбора культур при обработке больших коллекций.

2. Наибольшее число культур, активных против Staph. aureus, Bac. subtilis и Bact. coli, обнаружено среди представителей секции Asymmetrica.

3. Наименьшее количество культур с антагонистическими свойствами выявлено среди представителей секций Monoverticillata stricta и Biverticillata symmetrica.

Биологический институт
Ленинградского государственного университета
им. А. А. Жданова

Получено 14.IV.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курсанов Л. И. Пособие по определению грибков из родов Aspergillus и Penicillium. Москва, Медгиз. 1947.
2. Raper Ken B. a. Thom Ch. Manuel of the Penicillia. Baltimore. 1949.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ АЛЬБОМИЦИНА И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ АНТИБИОТИКОВ НА РАЗМНОЖАЮЩУЮСЯ КУЛЬТУРУ БАКТЕРИЙ

Ю. О. Сазыкин

Антибиотик альбомицин, впервые полученный в 1949 г. Гаузе и Бражниковой, в настоящее время широко применяется в лечебной практике; он обладает широким спектром антибактериального действия, подавляя рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [2].

Основное положительное свойство альбомицина по сравнению со многими другими антибиотиками состоит в полном отсутствии токсичности [4]. Альбомицин подавляет рост бактерий в исключительно высоких разведениях. Большой интерес представляет также то обстоятельство, что альбомицин усиливает антибактериальное действие пенициллина [3].

Нами было предпринято сравнительное изучение действия на размножающуюся культуру бактерий альбомицина и других антибиотиков: пенициллина, стрептомицина, ауреомицина и хлоромицетина.

Специальных исследований альбомицина в этом отношении не проводилось, поэтому требовалось установить, бактерициден или бактериостатичен новый антибиотик, не обладает ли он каким-либо особым типом антибактериального действия, подобно «дегенеративному» действию пенициллина и т. п. Наиболее целесообразно для решения этого вопроса было применение газометрической методики Варбурга.

Эта методика обладает рядом серьезных преимуществ по сравнению с методиками, заключающимися в измерении мутности суспензии бактерий и подсчете числа колоний после высева обработанных антибиотиком бактерий на поверхность агара.

При использовании газометрической методики критерием жизнеспособности бактериальных клеток является дыхание — один из основных процессов неотъемлемого качества жизни — обмена веществ.

Кроме того, данная методика позволяет изучать динамику действия антибиотического вещества, влияние различных факторов на это действие, а также и совместное действие двух или более антибиотиков на бактерий [1].

Предварительно, путем периодических высевов бактерий из сосудиков на поверхность питательного агара, было установлено, что за исключением первых 30—60 минут опыта увеличение поглощения кислорода бактериями за единицу времени довольно строго пропорционально увеличению числа клеток.

Методика

Тест-микробами служили Staph. aureus и Bact. coli. Антибиотики использовались в следующих концентрациях (в γ/мл):

альбомицин	— от	0,0014	до	0,14
пенициллин	— „	0,025	„	0,62
стрептомицин	— „	1	„	100
ауреомицин	— „	1	„	20
хлоромицетин	— „	1	„	20

Бактерии выращивались при 37° на мясо-пептонном агаре в течение 18 часов, затем снимались петлей с поверхности агара и суспендиро-

вались в мясопептонном бульоне до концентрации 150 млн. бактериальных тел в 1 мл. В основное пространство простерилизованных сосудиков вносилось по 8 мл суспензии бактерий. В боковую реторточку помещался 1 мл раствора антибиотика в стерильной дестиллированной воде (в контрольных сосудиках — 1 мл стерильной дестиллированной воды). Измерения поглощения кислорода производились каждые 30 минут. Содержимое реторточки добавлялось к бактериям через 30 минут после начала отсчета. Манометры и сосудики насыщались кислородом и встряхивались при температуре 37°.

Результаты

Полученные результаты представлены в виде кривых на рис. 1, 2, 3 и 4.

Пенициллин (рис. 1, *А*) проявляет свой специфический «дегенеративный» эффект, выражающийся в отмирании появившихся в его присутст-

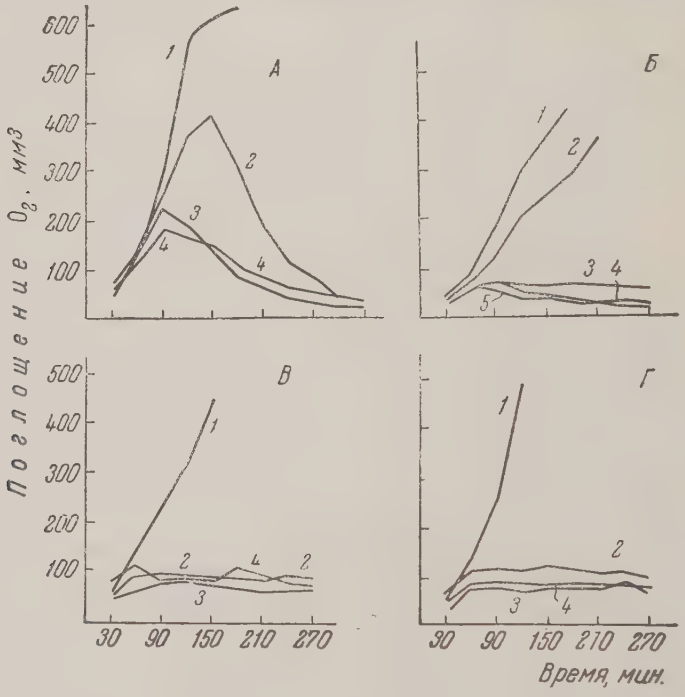


Рис. 1. Действие некоторых антибиотиков на размножающуюся культуру бактерий

А — действие пенициллина на St. aureus: *1* — контроль; *2* — 0,025 γ пенициллина на 1 мл; *3* — 0,062 γ пенициллина на 1 мл; *4* — 0,62 γ пенициллина на 1 мл. *Б* — действие стрептомицина на St. aureus: *1* контроль; *2* — 1 γ стрептомицина на 1 мл; *3* — 2,5 γ стрептомицина на 1 мл; *4* — 10 γ стрептомицина на 1 мл; *5* — 100 γ стрептомицина на 1 мл. *В* — действие ауреомицина на St. aureus: *1* — контроль; *2* — 1 γ ауреомицина на 1 мл; *3* — 5 γ ауреомицина на 1 мл; *4* — 20 γ ауреомицина на 1 мл. *Г* — действие хлоромицетина на St. aureus: *1*— контроль; *2* — 1 γ хлороми етина на 1 мл; *3* — 5 γ хлоромицетина на 1 мл; *4* — 20 γ хлоромицетина на 1 мл

вии новых поколений [5, 6]. Повидимому, после добавления пенициллина образуется от четырех до шести поколений бактерий, прежде чем начинается их отмирание. Бо́льшие концентрации пенициллина быстрее прекращают размножение, но гибель бактерий происходит медленнее.

Стрептомицин (рис. 1, *Б*) оказывал на размножающуюся культуру золотистого стафилококка довольно слабое бактерицидное действие, сила которого незначительно увеличивалась при многократном увеличении концентрации антибиотика (такое же действие оказывал стрептомицин и на кишечную палочку).

Хлоромицетин (рис. 1, *Г*) и ауреомицин (рис. 1, *В*) являются бактериостатическими антибиотиками для стафилококка и кишечной палочки.

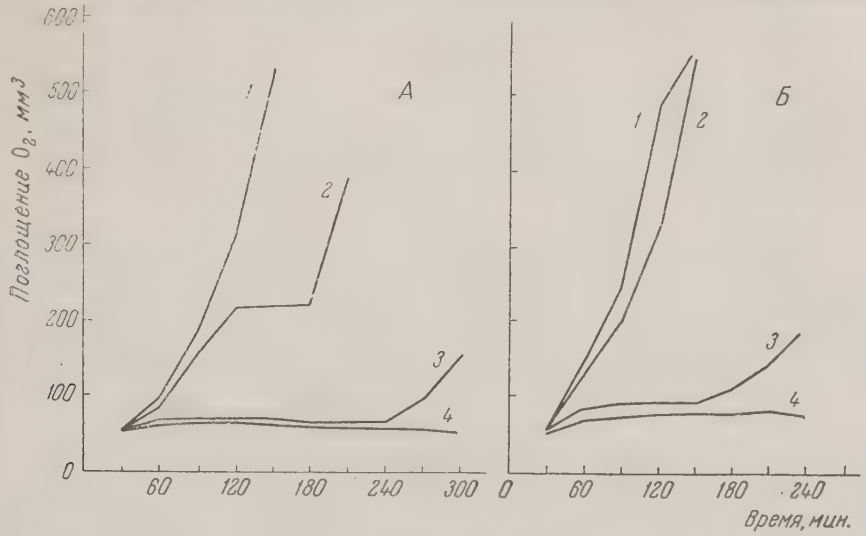


Рис. 2. Действие альбомицина на размножающуюся культуру бактерий

А — действие альбомицина на St. aureus: *1* — контроль; *2* — 0,0014 γ альбомицина на 1 мл; *3* — 0,035 γ альбомицина на 1 мл; *4* — 0,14 γ альбомицина на 1 мл. *Б* — действие альбомицина на Bact. coli: *1* — контроль; *2* — 0,0014 γ альбомицина на 1 мл: *3* — 0,035 γ альбомицина на 1 мл; *4* — 0,14 γ альбомицина на 1 мл

Альбомицин, как это видно из рис. 2, также проявлял бактериостатическое действие на стафилококка и кишечную палочку [1].

Если используются незначительные концентрации альбомицина (например, 0,035 γ/мл), то бактерии после нескольких часов бактериостазиса переходят к размножению. При 0,14 γ/мл период бактериостазиса продолжается все время опыта. Время бактериостазиса зависит как от количества бактерий в среде (рис. 3), так и от индивидуальных особенностей суспензий бактерий. Бактериостатический эффект альбомицина проявляется очень быстро. В опытах, где производилось измерение поглощенного бактериями кислорода через каждые 15 минут, было показано, что через 15 минут после добавления альбомицина поглощение кислорода заметно отстает от контроля (при 150 млн. бактерий в среде). Размножение бактерий прекращалось альбомицином быстрее, чем другими антибиотиками.

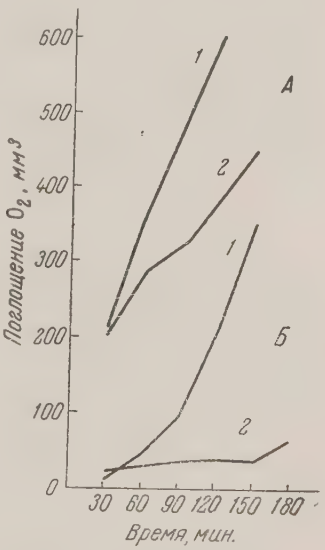


Рис. 3. Действие альбомицина на суспензию St. aureus различной концентрации

А: *1* — контроль, 500 млн. микробных тел на 1 мл; *2* — 500 млн. микробных тел на 1 мл, 0,035 γ альбомицина на 1 мл. *Б*: *1* — контроль, 50 млн. микробных тел на 1 мл; *2* — 50 млн микробных тел на 1 мл, 0,035 γ альбомицина на 1 мл

Нами были поставлены также опыты по изучению совместного действия альбомицина и пенициллина на размножающуюся культуру стафилококка. На рис. 4 показаны результаты одного из таких опытов.

[1] Для решения вопроса о типе действия альбомицина нами были, кроме того, поставлены опыты с использованием методики измерения мутности суспензии бактерий. Эти опыты также свидетельствуют о том, что альбомицин — бактериостатическое вещество.

Концентрация альбомицина составляла 0,035 γ/мл, пенициллина — 0,062 γ/мл. При этих концентрациях тип антибактериального действия,

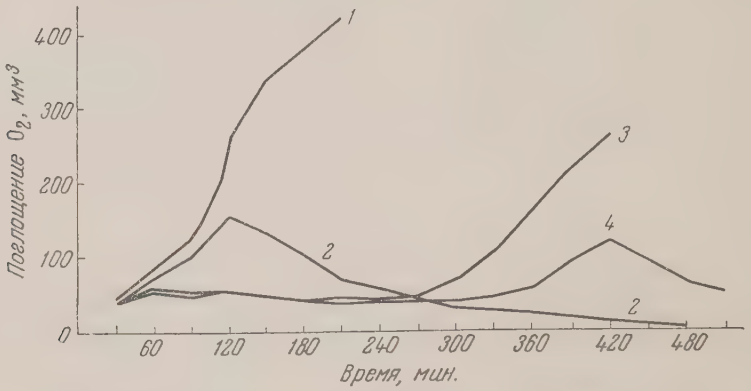


Рис. 4. Совместное действие пенициллина и альбомицина на St. aureus

1 — контроль; *2* — 0,062 γ пенициллина на 1 мл; *3* — 0,035 γ альбомицина на 1 мл; *4* — 0,062 γ пенициллина и 0,035 γ альбомицина на 1 мл

свойственный альбомицину и пенициллину, выражен весьма резко. Из полученных данных видно, что непосредственно после добавления антибиотиков проявляется бактериостатическое действие альбомицина. Однако, поскольку концентрация альбомицина была невелика, бактерии через несколько часов начинали размножаться. В этом случае проявлял свое «дегенеративное» действие пенициллин, причем отмирание бактерий наступало быстрее, чем в том случае, когда в среде присутствовал один пенициллин. Это объясняется, возможно, тем, что за время бактериостазиса пенициллин хотя и не проявлял своего действия, но фиксировался на бактериях и поэтому после перехода бактерий к размножению вызывал их гибель быстрее, чем непосредственно добавленный.

Таким образом, при небольших концентрациях альбомицина наблюдается своеобразная смена его действия действием пенициллина.

Выводы

Альбомицин является бактериостатическим веществом, почти одинаково активным как против грамположительных, так и грамотрицательных бактерий.

В определенных условиях при совместном действии на бактерии альбомицина и пенициллина можно наблюдать смену бактериостатического эффекта альбомицина «дегенеративным» эффектом пенициллина.

Институт по изысканию
новых антибиотиков АМН СССР
Москва

Получено 9. III. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бражникова М. Г. Механизм действия пенициллина. Усп. совр. биологии, **21**, стр. 145, 1946.
2. Гаузе Г. Ф. и Бражникова М. Г. Действие альбомицина на бактерии. Новости медицины, **23**, стр. 3, 1951.
3. Соколова К. Ф. и Смирнова М. К. Альбомицин при пневмониях у детей первого года жизни. Педиатрия, **1**, стр. 23, 1953.
4. Шорин В. А. Экспериментальное изучение фармакологических и лечебных свойств альбомицина. Новости медицины, 23, стр. 7, 1951.
5. Chain E. a. Duthie E. S. Bactericidal and bacteriolytic action of penicillin on the staphylococcus. Lancet, **1**, 652, 1945.
6. Hirsch I. a. Dosdogru S. The antistaphylococcal effect of penicillin, streptomycin and 5, 7-dichloro-8-hydroxyquinaldine (sterosan) in vitro. Arch. Biochem., **14**, 213, 1947.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОДУКЦИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОМАССЫ В ВОДОЕМЕ

М. В. Иванов

Развитие рыбоводства и освоение новых водоемов и водохранилищ требует тщательного изучения всех звеньев пищевой цепи. Если конечные звенья этой цепи — зоопланктон и рыба — изучаются уже давно, то взаимоотношения между зоопланктоном и бактериями изучены недостаточно. Особенно мало исследована роль бактерий как пищи для водных животных в природных условиях.

Как указывает Родина в своей обзорной статье [17], опытами различных исследователей доказано, что бактерии являются полноценным кормом для различных водных животных.

Однако эти опыты проводились обычно с чистыми культурами бактерий в лабораторных условиях. Отсутствие возможности выбора пищи, произвольные количества бактерий и водных животных и другие условия лабораторного опыта не дают возможности переносить результаты этих работ на водоемы. Поэтому до сих пор нельзя было правильно оценить удельный вес микроорганизмов в питании водных животных в природе.

Настоящая работа является попыткой определить количественно роль бактерий в питании зоопланктона в условиях, максимально приближающихся к естественным. Для определения количества бактерий, поедаемых зоопланктоном, необходимо знать скорость размножения бактерий и скорость выедания бактерий зоопланктоном. Поэтому задачами настоящей работы являлось:

1. Определить интенсивность размножения бактерий в водоемах разного типа.
2. Разработать методику определения величины выедания бактерий зоопланктоном.
3. С применением этих методик попытаться количественно оценить роль бактерий в трофологических отношениях в водоеме.

Основной материал был собран на евтрофных водоемах дельты р. Волги, главным образом на рыбхозе Ямат, летом 1953 г. Отдельные опыты были проведены на мезотрофном озере Глубоком (Московская обл.), а также на олиготрофном озере Байкал.

Интенсивность размножения бактерий в водоемах различного типа

Методика

Показателем интенсивности размножения бактерий служит время генерации, т. е. такой промежуток времени, за который количество бактерий в определенном объеме увеличивается вдвое (Иерусалимский [7]).

Для определения времени генерации мы воспользовались следующей методикой. Проба воды, взятая из водоема батометром, фильтровалась через прокипяченный «предварительный» мембранный фильтр для удаления зоопланктона и инфузорий. Как видно из данных табл. 1, при фильтровании через этот фильтр количество бактерий изменяется мало, в то

же время зоопланктон снимается полностью, и исключена возможность заноса посторонней микрофлоры, что может иметь место, если для удаления зоопланктона пользоваться планктонной сеткой (Кузнецов [11]).

Профильтрованной водой заполнялись стерильные склянки с притертыми пробками объемом в 250—300 мл, которые затем опускались в водоем на ту же глубину, с которой взят образец воды.

В основу работы были положены краткосрочные опыты: в дельте Волги опыты длились 6—8 часов, на Глубоком и на Байкале — одни сутки. В начале и в конце опыта в склянках определялось количество бактерий либо методом прямого счета на мембранных фильтрах № 3 (Разумов [14]), либо путем посева из соответствующих разведений на чашки с МПА — если определялось время генерации сапрофитов. Мембранные фильтры окрашивались 5%-ным карболовым эритрозином в течение суток и просчитывались под микроскопом с увеличением 900. Колонии на чашках с МПА учитывались через различные сроки, вплоть до 10 суток.

Таблица 1

Изменение количества бактерий при фильтровании воды через предварительный фильтр

Количество бактерий в тыс/мл		Отношение А/Б в %
фильтров. вода (А)	нефильтров. вода (Б)	
830	1340	62
1220	1400	87
1500	1780	84
1440	1560	92
1850	2480	74
1650	1900	87

Время генерации рассчитывалось по формуле

$$g = \frac{t \lg 2}{\lg B - \lg b},$$

где g — время генерации в часах, b — количество бактерий в 1 мл в начале опыта, B — количество бактерий в 1 мл в конце опыта, продолжительностью в t часов (Разумов [15], Стефенсон [21]).

При вычислении времени генерации принималось, что все бактерии, учитываемые по методу прямого счета, живые [1]. Основным достоинством методики является максимально возможное приближение условий опыта к условиям, существующим в водоеме: для всех своих энергетических и конструктивных процессов микроорганизмы используют те же вещества, которые они использовали в водоеме и, главное, в тех же концентрациях; они находятся в тех же температурных условиях и при таком же освещении, как в водоеме.

Учитывая, что мембранные фильтры могут быть загрязнены микробными клетками (Рукина и Бирюзова [19]), мы в точности следовали советам Разумова [16] и при фильтровании подбирали такие объемы воды, чтобы количество бактерий в поле зрения было не менее 100—200 клеток.

Результаты опытов

Опыты по определению времени генерации сапрофитных бактерий проводились в полое рыбхоза Ямат в зарослях жесткой растительности и у кромки «зеленого удобрения»», внесенного по методу Карзинкина и Кузнецова [10]. Результаты этих опытов сведены в табл. 2.

Как видно из данных, приведенных в табл. 2, время генерации сапрофитов в зарослях жесткой растительности равняется 4 ч. 40 м.—

[1] В нашей предыдущей работе [5] мы принимали, что живые бактерии составляют 80% от общего числа, поэтому все данные, приводимые из той работы, пересчитаны для сравнимости на 100% живых клеток.

Таблица 2

Время генерации сапрофитных бактерий в зарослях жесткой растительности и у кромки „зеленого удобрения" в полое рыбхоза Ямат в июне-июле 1953 г.

Дата опыта	Место опыта	Т-ра воды в°	Количество бактерий в тыс./мл		Длительность опыта в часах	Время генерации в часах
			начало опыта	конец опыта		
7.VII	Заросли жесткой	25	150	400	7,5	5,3
17.VII	растительности	—	120	300	6	4,6
25.VI	Кромка удобрения (дни после покоса) 1	26	19	480	6	1,3
27.VI	3	26,5	44	350	7	2,17
2.VII	8	23,5	14	270	8,5	2,0
5.VII	11	—	160	900	5,5	2,17
12.VII	17	25	125	920	5,5	1,9
15.VII	20	26	49	180	6	2,75

5 ч. 20 м. Однако уже в день покоса интенсивность размножения сапрофитных бактерий резко возрастает, а время генерации сокращается до 1 ч. 20 м. В последующие дни, вплоть до 17—20-го, время генерации у кромки остается приблизительно вдвое короче, чем в зарослях.

При сравнении полученных результатов с прошлогодними данными (Иванов [5]) видно, что вывод о положительном влиянии «зеленого удобрения» на интенсивность размножения сапрофитов подтвердился (рис. 1).

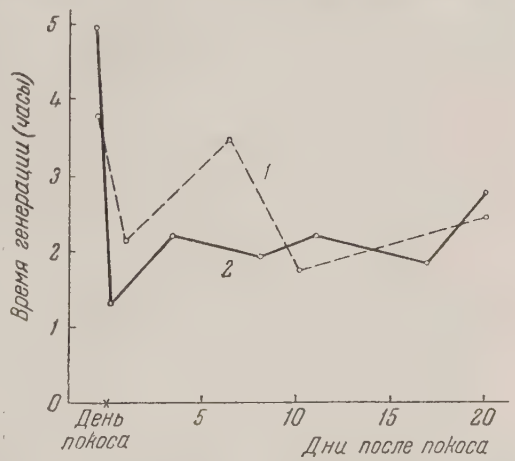


Рис. 1. Изменение времени генерации сапрофитных бактерий у кромки «зеленого удобрения» (Ямат, 1952—1953 гг.). *1* — 1952; *2* —1953 г.

О тесной взаимосвязи между интенсивностью размножения сапрофитных бактерий и концентрацией питательных веществ в воде говорят и опыты, проведенные на озере Глубоком 17—18 сентября 1953 г. В это время в озере происходило энергичное отмирание фитопланктона, причем наибольшее количество отмирающих клеток скопилось в зоне температурного скачка, располагавшегося на глубине 8—10 м. Как видно из данных, приведенных в табл. 3, именно на глубине 10 м наблюдалось самое короткое время генерации сопрофитов, хотя температура на этой глубине ниже, чем на глубине 5 м и поэтому можно было бы ожидать, что размножение будет интенсивнее на глубине 5 м. Что касается 20-м глубины, то здесь отсутствие легкодоступного питательного материала и низкая температура обусловили очень низкую интенсивность размножения.

Интенсивность размножения бактерий, учитываемых по прямому счету

Как видно из данных предыдущего раздела, продолжительность времени генерации сапрофитов тесно увязывается с наличием легкодоступного органического вещества в водоеме, однако для решения вопроса о роли бактерий в продуктивности водоема сапрофиты не могут иметь

Таблица 3

Время генерации сапрофитных бактерий на разных глубинах озера Глубокого 17—18.IX. 1953 г.

Глубина в м	Т-ра воды в °	Количество бактерии в 1 мл		Время генерации в часах
		начало опыта	конец опыта	
5	10,8	960	6 200	8,8
10	6,8	1630	40 000	4,5
20	4,8	4300	5 500	77,0

решающего значения, так как они обычно составляют незначительный процент от общего числа бактерий (см. Разумов [14]). Даже на евтрофном водоеме — рыбхозе Ямат — сапрофиты составляют всего 1—2,7%, а на озере Глубоком еще меньше — 0,16%. Поэтому для решения вопроса о роли бактерий в питании зоопланктона необходимо учитывать интенсивность размножения бактерий по прямому счету.

Первая серия опытов по определению интенсивности размножения бактерий, учитываемых по прямому счету, была проведена на рыбхозе Ямат в различных местах: в зарослях жесткой растительности, на открытом плесе и у кромки «зеленого удобрения». Результаты этих опытов представлены в табл. 4.

Таблица 4

Время генерации бактерий, учитываемых по прямому счету, в различных местах рыбхоза Ямат

Место взятия пробы		Т-ра воды в °	Количество бактерий (тыс/мл)		Продолжительность опыта в часах	Время генерации в часах
			начало опыта	конец опыта		
Заросли тростника		27	1550	1890	5	18
Открытый плес		26	910	1580	17,5	14,5
Кромка удобрения (дни после покоса)	1	26	1500	2230	6	10,5
	3	26,5	1640	2500	6	10
	8	23,5	1440	2340	6	8,75
	14	25	830	1910	7	6
	23	30	1220	2020	6	8

Как видно из данных, приведенных в этой таблице, интенсивность размножения бактерий, учитываемых прямым счетом, у кромки «зеленого удобрения» изменяется почти так же, как и интенсивность размножения сапрофитов: в первый день после покоса время генерации резко сокращается — с 18 до 10,5 часа. В последующие дни оно сокращается до 6—8 часов и остается на этом уровне вплоть до 23-го дня. Таким образом, интенсивность размножения всех бактерий в зоне «зеленого удобрения» возрастает в 2,5—3 раза по сравнению с зарослями жесткой растительности.

Кроме рыбхоза Ямат, опыты по определению времени генерации бактерий, учитываемых прямым счетом, были проведены и на других водоемах различной степени трофии. Результаты этих опытов сведены в табл. 5. Из таблицы видно, что интенсивность размножения сильно зависит от степени трофии водоема, т. е. в конечном счете от количества

Таблица 5

Время генерации в водоемах различной степени трофии

(Лето 1953 г.)

Дата опыта	Тип водоема	Название водоема	Т-ра воды в °	Длительность опыта в часах	Количество бактерий в тыс/мл		Время генерации в часах
					начало опыта	конец опыта	
		Рыбхозы					
7.VI	Ефтрофный	Ямат	26	17	910	1580	14,5
20.VI		Алтуфьевский	31	5	1053	1355	14
20.VI		Батрачок	26	7	1640	2145	14,5
23.VI		Дуданаков	26	13	1820	2350	35
18.IX	Мезотрофный	Оз. Глубокое 5 м	10,8	24	472	510	220
		Оз. Глубокое 10 м	6,8	25	351	437	78
19.VIII	Олиготрофный	Оз. Байкал	7,5	24	194	210	218

и характера органического вещества в воде. Так, на большинстве ефтрофных водоемов дельты Волги время генерации составляет 14—15 часов, а на озере Глубоком даже в зоне температурного скачка, где, как уже было указано, в период опытов скопилось много отмирающего фитопланктона, оно соответствует 78 часам. Еще медленнее размножение бактерий в поверхностных водах Глубокого и Байкала, где время генерации исчисляется 9—10 сутками, хотя данные по Байкалу можно считать лишь ориентировочными, так как за время опыта прирост бактерий в склянке очень незначительный и лишь немного превышает ошибку метода.

Все приведенные данные по интенсивности размножения как сапрофитов, так и бактерий, учитываемых прямым счетом, позволяют говорить о существовании тесной зависимости интенсивности размножения бактерий от количества и характера питательных веществ в водоеме.

Продукция бактериальной биомассы

Второй задачей нашего исследования было определение величины продукции бактериальной биомассы. Необходимо отметить, что термин «продукция» бактериальной биомассы имеет другой смысл, чем «продукция» фитопланктона. «Продукция» фитопланктона — это так называемая чистая продукция, т. е. прибавка органического вещества в водоеме за счет фотосинтеза. «Продукция» бактериальной биомассы — это количество органического вещества, перешедшего из одной формы в другую: из растворенного состояния — в клетки бактерий, которые используются следующим звеном трофологической цепи — зоопланктоном.

При разработке методики определения количества бактерий, потребленных зоопланктоном в час, мы исходили из следующих соображений. Если нам известно время генерации, равное g часам, и количество бактерий в начале опыта b, то каждый час из этого количества делятся $\frac{b}{g}$ бактерий и, следовательно, прирост бактерий за t часов в отсутствие выедания составит $\frac{bt}{g}$, а количество бактерий в воде станет $b + \frac{bt}{g}$.

Если же каждый час зоопланктон будет потреблять x бактерий, то действительное количество бактерий в воде через t часов будет

не $b + \frac{bt}{g}$, а какое-то B, меньшее, чем $b + \frac{bt}{g}$, на величину xt, т. е. $B = b + \frac{bt}{g} - xt$ и $xt = b + \frac{bt}{g} - B$. Приведя формулу в более простой вид, имеем $x = \frac{b-B}{t} + \frac{b}{g}$ — математическое выражение величины часовой продукции x.

Следовательно, для вычисления часовой продукции бактериальной биомассы достаточно знать количество бактерий в естественной, нефильтрованной воде в начале (b) и в конце (B) какого-то промежутка времени в t часов и время генерации g.

Исходя из этих рассуждений, мы ставили опыты по определению часовой продукции по следующей схеме. Вода из водоема разливалась в два ряда склянок с притертыми пробками: в один ряд наливалась вода, профильтрованная через предварительный фильтр для определения времени генерации по вышеописанной методике, а в другой — вода нефильтрованная, вместе с присутствующим в ней зоопланктоном. В нефильтрованной воде в начале и в конце опыта определялось количество бактерий по методу прямого счета на мембранных фильтрах № 3. В течение опыта все склянки находились в водоеме. Часовая продукция рассчитывалась по приведенной выше формуле.

Для прямого определения величины продукции был применен азид натрия. Этот ферментативный яд в низких концентрациях (порядка 10^{-4}) избирательно подавляет размножение бактерий (Сорокин [20]). Поэтому, учитывая число бактерий в нефильтрованной воде с добавкой азида в начале и в конце опыта, можно непосредственно определить их убыль за счет выедания.

После серии опытов с убывающими концентрациями азида удалось подобрать такую концентрацию, при которой зоопланктон оставался жизнеспособным, а размножение бактерий было почти полностью подавлено (табл. 6).

Таблица 6

Действие азида натрия на размножение бактерий
(Опыт в фильтрованной воде)

Концентрация	Количество бактерий (тыс/мл)			
	чашечный метод		прямой счет	
	начало опыта	через 6 часов	начало опыта	через 6 часов
Контроль (без азида)	49	180	1920	2450
Азид 1×10^{-4}	49	60	1920	1970
Азид 2×10^{-4}	49	62	1920	1980

Применение обеих предлагаемых методик определения продукции давало, как правило, очень близкие результаты (табл. 7), но мы в основном пользовались методикой косвенного определения продукции бактериальной биомассы.

Результаты опытов

Данные по влиянию «зеленого удобрения» на продукцию бактериальной биомассы представлены в табл. 8. Уже в день покоса продукция у кромки скошенной растительности возрастала по сравнению с зарослями. В последующие дни, вплоть до 23-го, продукция у кромки удобрения значительно выше, чем в зарослях, что особенно заметно, если сравнивать не

абсолютные величины продукции, а отношение продукции к биомассе (P/B-коэффициент, Зенкевич [4]). Так, если в зарослях этот коэффициент равен 1,86, то у кромки «зеленого удобрения» он соответствует 3—3,22, т. е. продуктивность удобренных участков в полтора раза больше, чем зарослей. Величина P/B-коэффициента показывает, что зоопланктон выедает за одни сутки в два-три раза бо́льшую биомассу бактерий по сравнению с биомассой, учитываемой в какой-либо определенный момент.

В процессе проведения данной работы мы определили также продукцию бактериальной биомассы в водоемах различного типа. Данные этих опытов сведены в табл. 9.

Как видно из таблицы, продукция, так же как и интенсивность размножения, тесно связана со степенью трофии водоема и выражается в евтрофных водоемах величинами порядка 1—1,8 мг сырого органического вещества на литр, а в мезо- и олиготрофных — десятыми и сотыми

Таблица 7

Результаты определения продукции бактериальной биомассы различными методами

Продукция в тысячах клеток бактерий на 1 мл в час	
по формуле	с применением азида
133	137
160	163
177	80
143	150
175	170

Таблица 8

Влияние «зеленого удобрения» на суточную продукцию бактериальной биомассы (рыбхоз Ямат)

Место взятия пробы		Количество бактерий в тыс/мл		Длительность опыта в часах	Время генерации в часах	Суточная продукция (число клеток) тыс./мл	Суточный P/B-коэффициент
		начало опыта	конец опыта				
Заросли тростника		1716	1443	5	18	3190	1,86
Кромка удобрения (дни после покоса)	1	1780	1890	6	10,5	3840	2,15
	8	1560	1640	6	8,7	4150	2,63
	14	1340	1640	7	6	4320	3,22
	23	1400	1370	5	8	4200	3,00

Таблица 9

Продукция бактериальной биомассы в водоемах различного типа

Тип водоема	Название водоема	Т-ра воды в °	Количество бактерий в тыс/мл		Длительность опыта в часах	Время генерации в часах	Суточная продукция (число клеток) тыс./мл	Суточный P/B-коэффициент
			начало опыта	конец опыта				
	Рыбхозы							
Евтрофный	Алтуфьевский	31	1290	1400	5	14	1750	1,35
	Ямат	26	1250	1520	17,5	14,5	1536	1,23
	Дуданаков	26	1850	1790	13	35	1160	0,63
Мезотрофный	Оз. Глубокое, 5 м	6,8	453	456	25	78	138	0,31
Олиготрофный	Оз. Байкал	7,5	228	218	24	218	34	0,15

долями миллиграмма на литр, если принять объем одной бактериальной клетки равным 1 μ^3, а удельный вес равным 1. Полученные данные позволяют говорить о большом значении микроорганизмов в продуктивности водоемов различного типа, так как при сравнении продукции фитопланктона, учитываемой методом Винберга, а также с применением «меченой» углекислоты $C^{14}O_2$ с продукцией бактериальной биомассы последняя представляет соизмеримую величину (табл. 10).

Таблица 10

Сравнение величин продукции фитопланктона и бактерий

Название водоема	Продукция фитопланктона в мг глюкозы на 1 л	Продукция бактерий в мг сырого веса на 1 л
Рыбхоз Ямат . .	0,340	1,536
Оз. Глубокое . .	0,092—0,187	0,138
Оз. Байкал . . .	0,050—0,074	0,034

Обсуждение результатов

Некоторые авторы считают, что в изолированных пробах воды бактерии размножаются интенсивнее, чем в водоемах. По данным Цобелла и Андерсона (ZoBell a. Anderson [23]), количество бактерий, учитываемых чашечным методом, резко возрастает к 3—5-м суткам хранения. Особенно сильно увеличивается количество бактерий в склянках малого объема.

На основании этих наблюдений, а также опытов, в которых поверхность соприкосновения воды со стеклом увеличивалась искусственно, путем добавки стеклянных бус и песка, Цобелл и Андерсон пришли к выводу, что на поверхности соприкосновения воды со стеклом создаются условия, благоприятные для размножения бактерий.

Основываясь на данных Цобелла и Андерсона, некоторые авторы (Крисс, Рукина и Новожилова [8], Крисс и Рукина [9]) утверждают, что условия существования в склянках настолько отличаются от условий в водоеме, что изучать размножение бактерий этим методом невозможно. Однако при более внимательном анализе данных Цобелла и Андерсона видно, что ускорение размножения бактерий в склянках наблюдается лишь на вторые сутки. В течение первых суток увеличение количества бактерий в фильтрованной воде было незначительным и шло равномерно в склянках различного объема. В опытах Ворошиловой и Дмановой [3] в склянках с морской водой, в которой зоопланктон был либо отфильтрован, либо убит кипячением, резкое ускорение размножения бактерий наблюдалось также лишь на вторые-третьи сутки хранения.

Таким образом, даже в воде, освобожденной от зоопланктона, в условиях краткосрочного опыта (не более суток) обычно не наблюдается резкого увеличения числа бактерий. Если же количество их несколько увеличивается по сравнению с водоемом, то это объясняется, очевидно, тем, что в водоеме часть бактерий все время потребляется зоопланктоном и поэтому количество их держится на каком-то определенном уровне.

Правильность такого вывода подтверждается данными табл. 11, в которой показано изменение числа бактерий в параллельных пробах фильтрованной и нефильтрованной воды. Отсутствие увеличения числа бактерий в нефильтрованной воде свидетельствует о том, что в краткосрочном опыте условия существования бактерий в склянках мало чем отличаются от условий существования в природных водах (Винберг и Яровицина [2]).

Таблица 11

Изменение количества бактерий при хранении фильтрованной и нефильтрованной воды (в тыс/мл)

Название водоема	Дата анализа	Длительность хранения в часах	Фильтров. вода		Нефильтров. вода	
			начало	конец	начало	конец
Оз. Черное *	16.V.37	24	785	1675	681	783
Оз. Коломенск * . . .	5.VIII.37	24	—	—	1870	1914
Оз. Шитовское * . . .	10.VIII.37	24	—	—	1148	1778
Рыбхоз Ямат	18.VI.53	6	1220	2020	1400	1370
» »	25.VI.53	6	1500	2230	1780	1890
Рыбхоз Дуданаков . . .	23.VII.53	13	1820	2350	1850	1790
Оз. Глубокое	18.IX.53	25	351	437	453	456
Оз. Байкал	19.VIII.53	24	194	210	228	218

* Данные Винберга и Яровициной [2].

Метод изолированных проб воды широко используется в лимнологии для изучения процессов образования и деструкции органического вещества в водоемах (Винберг [1], Кузнецов [10], Щербаков [22]).

По данным Щербакова [22] потребление кислорода в изолированных пробах воды и в гиполимнионе озера Глубокого происходит с одинаковой интенсивностью. Ивлев [6] отмечает, что образование органического вещества перифитонными водорослями в склянке и в водоеме также происходит весьма сходно.

Все эти данные позволяют утверждать, что в условиях краткосрочного опыта условия существования в склянках мало отличаются от естественных условий, и поэтому мы считаем, что предлагаемая методика вполне приемлема для определения интенсивности размножения и интенсивности выедания бактерий в воде.

Данные, полученные в результате проведенной работы, позволяют говорить о существовании в водоеме подвижного равновесия между концентрацией питательных веществ, интенсивностью размножения бактерий и выеданием бактерий зоопланктоном. Обогащение воды питательными веществами очень быстро вызывает ускорение размножения бактерий, как это наблюдалось при внесении «зеленого удобрения» или при отмирании фитопланктона на озере Глубоком. Однако такое ускорение размножения не обязательно приводит к увеличению биомассы бактерий, так как количество зоопланктона у кромки «зеленого удобрения», как видно из рис. 2, также возрастает[2]. Это увеличение количества Cladocera происходит не только за счет концентрирования зоопланктона в более обеспеченных пищей участках рыбхоза, но также и за счет более энергичного размножения зоопланктона в условиях лучшего питания. Так, по наблюдениям, проведенным на рыбхозе Ямат, плодовитость и скорость созревания яиц Simacephalus serrulatus у кромки «зеленого удобрения» возрастает в полтора раза. Подобная же связь плодовитости зоопланктона с обеспеченностью бактериальной пищей обнаружена и Мануйловой [13]. Таким образом, тесная связь интенсивности размножения с обеспеченностью питанием, установленная рядом авторов (Никольский [13]) для различных групп живых организмов, может быть распространена и на бактерий и зоопланктон.

[2] Данные по количеству Cladocera были нам любезно предоставлены М. А. Кастальской-Карзинкиной.

Предлагаемая методика учета продукции бактериальной биомассы в тесной связи с интенсивностью размножения позволяет более правильно оценить такое мероприятие, как внесение «зеленого удобрения». На основании полученных данных (рис. 2) мы не можем согласиться с мнением Родиной [18], что полезное действие «зеленого удобрения» заканчивается тогда, когда наблюдается снижение возросшей в результате действия удобрения биомассы бактерий. Если бы мы рассуждали подобным же образом, то должны были бы придти к выводу, что «зе-

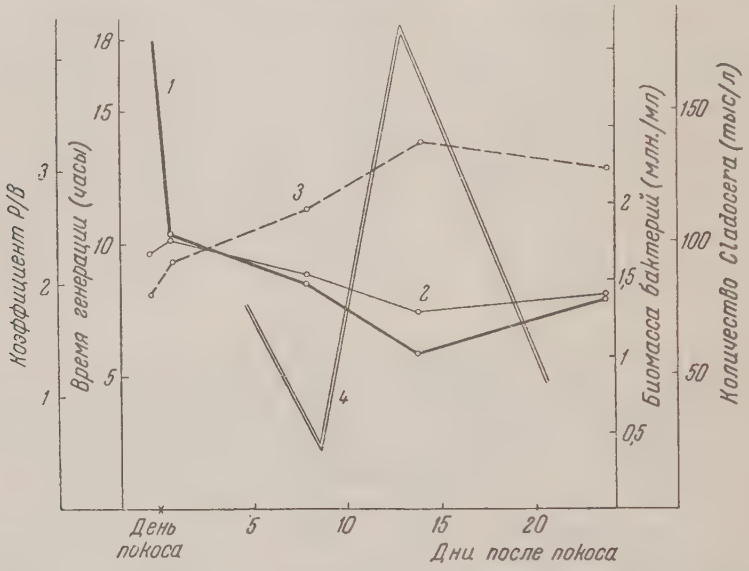


Рис. 2. Изменение P/B-коэффициента, времени генерации и биомассы бактерий, а также количества Cladocera у кромки «зеленого удобрения». *1* — время генерации; *2* — биомасса бактерий; *3* — P/B-коэффициент; *4* — Cladocera

леное удобрение» либо вообще не действует на бактерий, либо действует отрицательно, так как биомасса бактерий у кромки удобрения снижается по сравнению с зарослями (рис. 2). На основании же данных по интенсивности размножения и интенсивности выедания бактерий можно заключить, что уменьшение биомассы бактерий в зоне действия удобрения связано не с отрицательным действием удобрения, а с усиленным потреблением бактерий зоопланктоном. Правильность именно такого вывода подтверждается увеличением коэффициента P/B и кривой роста количества Cladocera (рис. 2). С другой стороны, более высокие величины биомассы бактерий в зарослях зависят, повидимому, от того, что зоопланктона там мало и интенсивность размножения бактерий там выше, чем интенсивность их потребления.

Таким образом, для правильной оценки роли бактерий в продуктивности водоемов недостаточно знать только биомассу, необходимо также учитывать динамику процессов, от которых зависит величина биомассы.

Выводы

1. Разработана методика определения интенсивности размножения бактерий в водоеме и методика определения продукции бактериальной биомассы.

2. С применением этих методик в рыбхозе Ямат в июне-июле 1953 г. показано, что внесение жесткой растительности в виде «зеленого удобрения» повышает продукцию первого звена трофологической цепи — бактерий — в полтора-два раза.

3. Интенсивность размножения бактерий в водоемах зависит от степени трофии водоема. В евтрофных водоемах дельты Волги время генерации составляет 14—35 часов, в мезотрофном озере Глубоком 80—200 часов и в олиготрофном озере Байкал — более 200 часов.

4. Бактерии играют существенную роль в продуктивности водоемов евтрофного и мезотрофного типа.

Институт микробиологии АН СССР
и
Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Получено 11. V. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Винберг Г. Г. К вопросу о балансе органического вещества в водоеме. Сообщ. I—V. Тр. Лимн. ст. в Косине, вып. 18, 1934; вып. 20, 1935; вып. 21, 1937; вып. 22, 1939.
2. Винберг Г. Г. и Яровицина Л. И. Размножение бактерий и поглощение кислорода в воде. Микробиология, XV, вып. 6, 1946.
3. Ворошилова А. и Дианова Е. Роль планктона в размножении бактерий в изолированных пробах воды. Микробиология, VI, вып. 6. 1937.
4. Зенкевич Л. А. Фауна и биологическая продуктивность моря, т. I, «Сов. наука». М., 1951.
5. Иванов М. В. Определение времени генерации водных бактерий в рыбхозе дельты реки Волги. Тр. ИНМИ 3, 1954.
6. Ивлев В. С. О методе определения интенсивности образования органического вещества в водоеме. Микробиология, VIII, вып. 8, 1939.
7. Иерусалимский Н. Д. Азотное и витаминное питание микробов. АН СССР, М., 1949.
8. Крисс А. Е. и Рукина Е. А. Биомасса микроорганизмов и скорость их размножения в океанических глубинах. Журн. общ. биологии, XIII, вып. 5, 1952.
9. Крисс А. Е., Рукина Е. А., Новожилова М. И. Распространение гетеротрофных микроорганизмов в океанических глубинах. Изв АН СССР, сер. биол., № 5. 1952.
10. Кузнецов С. И., Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах. АН СССР, М., 1952.
11. Кузнецов С. И. Основные подходы к изучению соотношений между первичной продукцией органического вещества в водоеме и биомассой бактерий. Тр. пробл. и компл. совещаний, II, АН СССР, 1954.
12. Мануйлов Е. Ф. Опыт первого года работы по повышению продуктивности водоемов Новгородской области. Тр. пробл. и компл. совещаний, I, 1951.
13. Никольский Г. В. О теоретических основах работ по динамике численности стада. Тр. Всес. конфер. по вопросам рыбного хозяйства, АН СССР, 1953.
14. Разумов А. С. Прямой метод учета бактерий в воде. Сравнение его с методом Коха, Микробиология, I, вып. 2, 1932.
15. Разумов А. С. Взаимоотношения между сапрофитными бактериями и планктоном в водоемах. Вопросы санитарн. бактер. АМН СССР, М., 1948.
16. Разумов А. С. Замечания к статье «Метод получения ультрафильтров для прямого счета свободных от микробов клеток» Е. А. Рукиной и В. И. Бирюзовой. Микробиология, XXI, вып. 4, 1952.
17. Родина А. Г. Бактерии как пища водных животных. Природа, 10, 1949.
18. Родина А. Г. Динамика бактериальной биомассы при использовании зеленого удобрения в рыбоводных прудах. ДАН СССР, LXXXIV, вып. 6, 1952.
19. Рукина Е. А. и Бирюзова В. И. Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток. Микробиология, XXI, вып. 1, 1952.
20. Сорокин Ю. И. Изучение некоторых сторон обмена ацетоноэтиловых бактерий с применением ферментативных ядов. Тр. ИНМИ, 2, 1952.
21. Стефенсон И. Метаболизм бактерий, ИЛ, 1951.
22. Щербаков А. П. Продукция органического вещества фитопланктона в Глубоком озере. Тр. Всес. гидробиол. об-ва, вып. 5, 1953.
23. ZoBell C. E. a. Anderson D. Q. Observations on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea water and the influence of oxygen tension and solid surfaces. Biol. Bull., 71, № 2, 1936.

О ВИДОВОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ВИРУСОВ ПОЛИЭДРЕННОЙ БОЛЕЗНИ НАСЕКОМЫХ

С. М. Гершензон

Введение

Полиэдренная болезнь широко распространена среди чешуекрылых насекомых. В настоящее время известно около 150 видов этого отряда, болеющих ею, но, несомненно, число таких видов гораздо больше, так как заболевания полиэдренной болезнью рано или поздно обнаруживаются почти у каждого представителя чешуекрылых, подвергаемого исследованию. Заболевание везде вызывается фильтрующимся вирусом, палочковидные частицы которого, видимые под электронным микроскопом, вкраплены в вещество, образующее внутриядерные многогранные тельца — полиэдры.

Несмотря на сходство в течении и в симптомах болезни у разных видов чешуекрылых, есть основания полагать, что существует не один, а несколько или даже много различных вирусов полиэдренной болезни. Об этом, в первую очередь, говорят данные электронной микроскопии, показывающие, что вирусные частицы полиэдренной болезни разных видов чешуекрылых в ряде случаев различаются своими размерами. На это же указывают и некоторые результаты опытов по искусственному заражению разных видов этого отряда вирусами полиэдренной болезни, взятыми от других видов.

Над вопросом о возможности передачи вируса полиэдренной болезни от одного вида другому работал ряд исследователей, накопивших довольно обширный фактический материал, ценность которого, однако, снижается тем, что опыты проводились по разной методике и результаты их поэтому не всегда сравнимы.

Попытки передать полиэдренную болезнь от одного вида к другому значительно чаще оканчивались неудачей, чем приводили к заболеванию. Случаи несомненной межвидовой передачи вируса относятся главным образом к формам, близким по своему систематическому положению. Эти наблюдения привели к представлению о довольно высокой видовой или групповой специфичности вирусов полиэдренной болезни. Такой точки зрения до последнего времени придерживалось большинство исследователей, работающих в этой области. Так, например, Бергольд [3] утверждает, что полиэдренная болезнь, хотя и не строго специфична для близких видов, но не может передаваться отдаленным видам. Еще категоричнее выражается Смит [4], который в своей работе, вышедшей в 1952 г., писал о вирусах полиэдренной болезни: «Эти вирусы крайне специфичны и перекрестное заражение даже между близкородственными видами очень редко». Этот взгляд нашел свое отражение и в современной классификации вирусов полиэдренной болезни. Так, в статье, специально посвященной номенклатуре и классификации вирусов насекомых, Штейнгауз [8] выделяет для семи видов насекомых семь видов полиэдренных вирусов и высказывает предположение, что у каждого из остальных видов насекомых, подверженных полиэдренной болезни, заболевание тоже вызывается своим особым вирусом, отличным от всех остальных.

Против этой точки зрения о высокой видовой специфичности вирусов полиэдренной болезни, недавно еще являвшейся общепринятой, в самое последнее время выступил тот же Смит, которого мы выше цитировали, и его сотрудники. В опубликованных ими за последнее время работах [5, 6, 7] сообщается более чем о 30 случаях передачи вирусов полиэдренной болезни от одного вида чешуекрылых другим, притом зачастую видам, далеким в систематическом отношении. Правда, Смит и его сотрудники рассматривают в этих работах вопрос о передаче не только обычной полиэдренной болезни чешуекрылых, но также и о передаче новой, открытой ими вирусной болезни, которая резко отличается от обычной полиэдрии по строению и физико-химическим свойствам многогранных телец, по их локализации внутри клетки (в цитоплазме, а не в ядре), по поражаемым болезнью тканям (эпителий кишечника), по форме и размерам вирусных частиц (мелкие шарики, а не палочки), по течению и внешним признакам болезни. Поэтому объединять эту новую болезнь насекомых с обычной полиэдренной болезнью нет ника-

ких оснований. Но даже если отбросить те случаи, где Смит и его сотрудники говорят о межвидовой передаче этого нового заболевания, все же в их работах содержится довольно много примеров передачи от вида к виду настоящей, типичной полиэдренной болезни. На основании этих наблюдений Смит и Ксерос [6] высказывают по вопросу о видовой специфичности вирусов полиэдренной болезни взгляд, диаметрально противоположный тому, который защищал Смит в 1952 г.,—теперь они утверждают, что заражение других видов удается в очень широких масштабах и что отдаленные в систематическом отношении виды даже легче поддаются такому перекрестному заражению, чем виды близкородственные.

Таким образом, к настоящему времени по вопросу о видовой специфичности вирусов полиэдренной болезни выкристаллизовались две взаимно исключающие друг друга точки зрения — одна, согласно которой специфичность эта весьма высока, и другая, согласно которой эта специфичность низка или даже отсутствует. Такое положение вызывает необходимость дополнительных исследований в этой области. Они тем более нужны, что вопрос, о котором идет речь, представляет немаловажный интерес как в теоретическом, так и в практическом отношении.

Предлагаемая статья посвящена описанию результатов работы, проведенной нами по вопросу о видовой специфичности вирусов полиэдренной болезни.

Материал и методика

Материалом для настоящей работы послужили 49 видов чешуекрылых насекомых, принадлежащих к 17 семействам, и три вида перепончатокрылых из семейства пилильщиков, относительно которого известно, что его представители могут болеть полиэдренной болезнью.

Гусеницы содержались в стеклянных кристаллизаторах или больших стеклянных банках, по нескольку штук в каждом сосуде. Сосуды с подопытными и контрольными гусеницами находились в лаборатории экспериментальной базы Института зоологии АН УССР почти все время при температуре от 20 до 26°. Относительная влажность воздуха колебалась от 54 до 78%. Каждому виду гусениц давался корм, который является для него излюбленным в естественных условиях. По большей части это был тот вид растений, на котором были собраны гусеницы данного вида.

Заражение подопытных гусениц проводилось двумя способами — через рот или подкожно. Последний способ применялся и для заражения куколок.

Заражение через рот осуществлялось посредством погружения головы подопытной гусеницы в неразбавленную гемолимфу, взятую от гусеницы или куколки, находящейся в разгаре полиэдренной болезни, или же посредством нанесения капли такой гемолимфы на ротовые части подопытной гусеницы.

Подкожное заражение производилось тоже гемолимфой больной гусеницы или куколки, но гемолимфа эта разбавлялась в 10 раз стерильной дестиллированной водой. Обычно подопытной гусенице вводилось (в зависимости от ее возраста и размера) от 0,02 до 0,05 мл заразной жидкости.

В большинстве опытов использовалась гемолимфа, полученная от зараженных полиэдренной болезнью особей двух видов — китайского дубового шелкопряда и тутового шелкопряда. Кроме того, в небольшом числе опытов была использована гемолимфа больных полиэдрией особей уссурийского дубового шелкопряда и большого ночного павлиньего глаза.

Особи для опыта и контроля всегда брались из одних и тех же партий (из сборов из одного и того же места, из гусениц, вышедших из одних и тех же кладок яиц, и т. д.).

Все гусеницы, куколки и бабочки, погибшие в течение работы как в опытах, так и в контроле, подвергались тщательному микроскопическому исследованию.

Экспериментальная часть

В общей сложности нами было проведено свыше 500 опытов искусственного заражения разных видов насекомых вирусами полиэдренной болезни других видов.

У большинства видов, гусениц которых удавалось заразить, болезнь протекала типичным образом, т. е. приблизительно так, как это известно для тутового и дубового шелкопрядов. При этом первые внешне заметные признаки заболевания (вялость, отказ от пищи) наступали обычно на 6—10-й день после заражения, а гибель — еще спустя 1—3 дня. У всех представителей сем. Nymphalidae наблюдалось очень быстрое течение болезни, приводившее к смерти уже на 4—7-й день после заражения. У представителей семейств Sphingidae, Arctiidae и особенно Lasiocampidae заболевание, напротив, протекало вяло и гибель наступала в более поздние сроки.

Проведенные нами опыты показали способность вирусов полиэдренной болезни вызывать заболевание не только тех видов, от которых они получены, но и многих других. На помещаемой таблице (стр. 94) подведены вытекающие из этих опытов итоги, касающиеся возможности заражения разных видов полиэдренными вирусами дубового и тутового шелкопрядов. Виды, заражаемость которых данными вирусами была изучена в наших опытах в достаточной степени, чтобы по этому вопросу можно было делать определенные выводы, разбиты в этой таблице на две группы — на виды восприимчивые и невосприимчивые. Для остальных видов, с которыми мы работали, у нас имеется слишком мало данных, чтобы с уверенностью отнести их к той или другой из этих групп, и поэтому они не включены в таблицу. Поскольку ни один из них заразить не удалось, можно полагать, что по меньшей мере многие из них являются невосприимчивыми или маловосприимчивыми к вирусам, которыми мы их заражали.

Следует отметить, что наша таблица лишь грубо отражает различия восприимчивости изученных видов к указанными вирусам. Так, в группу видов, поддающихся заражению, включены как такие, которые проявляют высокую восприимчивость к вирусу при любом способе заражения, так и такие, заболевания которых при заражении через рот вызвать не удалось и которые болели только в том случае, если вирус вводился им подкожно (например, разные виды бражников при заражении их вирусом дубового шелкопряда). Возможно также, что и среди видов, отнесенных нами к невосприимчивым, есть такие, которые удалось бы заразить при введении еще бо́льших доз вируса, других способах заражения или в том случае, если бы они были предварительно ослаблены неблагоприятными условиями воспитания.

Обсуждение результатов

Данные, приведенные в таблице, не оставляют сомнения в том, что старое представление о высокой видовой специфичности вирусов полиэдренной болезни должно быть отброшено. Во многих случаях удается заражение не только близких видов, но и видов, принадлежащих к другим семействам, в том числе весьма отдаленным в систематическом отношении. С другой стороны, нельзя согласиться и с точкой зрения, выдвигаемой в последнее время английскими авторами [6], согласно которой специфичность полиэдренных вирусов очень низка и заражение отдаленных видов удается даже легче, чем заражение близкородственных. Наши материалы показывают, что известная групповая специфичность вирусов полиэдренной болезни все же существует. Так, например, вирус дубового шелкопряда вызывает заболевание у изученных нами видов семейств Attacidae, Nymphalidae, Sphingidae и Arctiidae и почти у всех представителей семейства Lasiocampidae, а также у некоторых представителей семейства Noctuidae и подсемейства Acronictinae из семейства

Orgyidae, но, повидимому, не может вызывать заболевания у представителей подсемейства Orgyinae из этого последнего семейства, а также у сем. Bombycidae и у ряда более примитивных семейств чешуекрылых. Вирус тутового шелкопряда вызывает заболевание у представителей семейств Papilionidae, Nymphalidae и Geometridae и у некоторых представителей семейства Orgyidae, но, повидимому, не опасен для представителей большинства других изученных нами семейств.

Хотя вирусы полиэдренной болезни не обладают строгой видовой специфичностью, но в то же время между систематическим положением насекомых и поражаемостью их тем или иным полиэдренным вирусом существует определенная связь. При этом виды, представляющие родственную систематическую группу, например, входящие в одно и то же семейство или подсемейство, в большинстве случаев проявляют сходное отношение к одному и тому же вирусу. Так, из форм, поражаемых вирусом дубового шелкопряда, очень восприимчивы к нему представители того же семейства Attacidae, к которому принадлежит этот вид, и представители семейства Nymphalidae. Представители семейств Sphingidae и Arctiidae восприимчивы к этому вирусу в меньшей степени, и болезнь протекает у них более медленно; представители семейства Lasiocampidae заражаются еще труднее, и заболевание имеет у них затяжной, хронический характер. Аналогичные различия имеются между разными семействами чешуекрылых и по отношению к вирусу тутового шелкопряда.

Можно считать установленным, что вирусы полиэдренной болезни дубового и тутового шелкопрядов, несомненно, различны, но каждый из них способен поражать большую и довольно разнообразную группу видов насекомых. Нужно думать, что такое же положение характеризует и другие вирусы полиэдренной болезни, но число последних, вероятно, гораздо меньше, чем число поражаемых видов.

В этом свете, вероятно, нуждается в серьезных поправках и классификация полиэдренных вирусов, предложенная Штейнгаузом [8]. Наши данные показывают, что для построения такой классификации необходимо учитывать возможность поражения одним вирусом многих видов насекомых.

Проведенные опыты дают довольно определенный ответ на вопрос о том, обусловливаются ли морфологические особенности полиэдров характером вируса или видовой спецификой поражаемых клеток и тканей. Уже давно известно, что полиэдры, образующиеся у дубового и у тутового шелкопрядов при поражении этих видов своими вирусами, резко различаются по своим размерам и форме; особенно четко это показано в работе Тарасевич [2]. Полиэдры дубового шелкопряда имеют диаметр в среднем около 1,5—2 μ и представляют обычно довольно неправильные гексаэдры или пентагон-додекаэдры, углы которых почти всегда сглажены. Полиэдры тутового шелкопряда гораздо крупнее, диаметр их равен в среднем приблизительно 4—5 μ, и они большей частью обладают формой довольно правильных гексагональных ромбододекаэдров с хорошо выраженными углами. Наши данные показывают, что при заражении разных видов чешуекрылых вирусом дубового шелкопряда у всех у них развиваются полиэдры того же типа, который характерен для дубового шелкопряда, а при заражении разных видов вирусом тутового шелкопряда развиваются полиэдры типа, свойственного этому последнему. Это хорошо видно на помещаемых рисунках, где изображены полиэдры, образующиеся при заражении этими вирусами у некоторых видов, принадлежащих к разным семействам. Все рисунки изображают средние по размерам, типичные, зрелые полиэдры (т. е. полиэдры из ядер, достигших максимального объема или уже лопнувших) из клеток жирового тела или из клеток гемолимфы гусениц старшего возраста. Рисунки сделаны при помощи рисовального аппарата и при одном и том же увеличении.

Восприимчивость разных видов чешуекрылых* к вирусам

К вирусу дубового шелкопряда

восприимчивы			невосприимчивы	
семейство и вид	число гусениц в опыте	из них заболели полиэдрией	семейство и вид	число гусениц в опыте
Сем. Attacidae			Сем. Bombycidae	
Saturnia pyri Schiff	16	9	Bombyx mori L.	150
Сем. Nymphalidae			Сем. Pieridae	
Vanessa urticae L.	187	111	Pieris brassicae L.	45
Vanessa io L.	50	39	Pieris rapae L.	25
Pyrameis atalanta L.	5	5	Aporia crataegi L.	230
Сем. Sphingidae			Сем. Lasiocampidae	
			Malacosoma neustria L. . . .	55
Smerinthus ocellatus L. . . .	13	7	Сем. Notodontidae	
Celerio galii Rott.	5	5		
Sphinx ligustri L.	4	2	Phalera bucephala L.	95
Sphinx pinastri L.	14	14	Сем Orgyidae	
Сем. Lasiocampidae			Ocneria dispar L.	70
			Euproctis chrysorrhoea L. . .	330
Dendrolimus pini L.	49	46	Orgyia antiqua L.	25
Macrothylacia rubi L.	28	13	Orgyia gonostigma F.	16
Lasiocampa trifolii L.	10	10	Leucoma salicis L.	115
Cosmotriche potatoria L. . . .	14	8	Calocasia coryli L.	26
			Oxycesta geographica F. . . .	100
Сем. Orgyidae			Сем. Geometridae	
			Biston hirtaria Cl.	15
Acronicta aceris L.	10	9	Сем. Cossidae	
Сем. Noctuidae			Cossus cossus L.	8
Scoliopteryx libatrix L. . . .	8	2	Сем. Heterogeneidae	
Barathra brassicae L.	26	17	Cochlidion limacodes Hufn . .	16
Сем. Arctiidae			Сем. Hyponomeutidae	
Arctia caja L.	46	23	Hyponomeuta malinellus Z. .	75
Arctia villica L.	5	5	Сем. Glyphipterigidae	
Spilarctia lubricipeda L. . . .	14	10	Anthophila fabriciana L. . . .	20

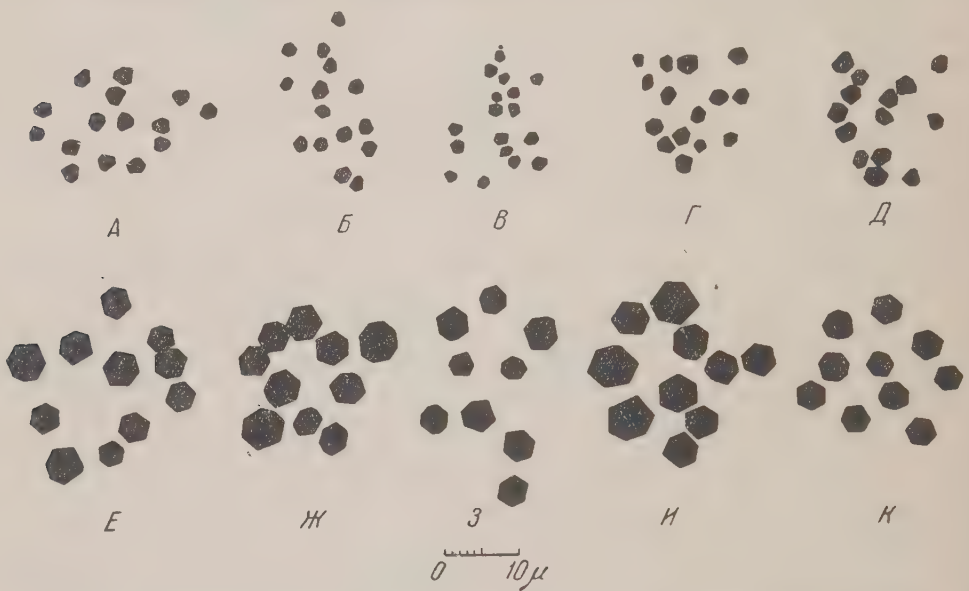
* Испытанные нами три вида пилильщиков (Tenthredinidae, Hymenoptera) оказались

полиэдренной болезни дубового и тутового шелкопрядов

К вирусу тутового шелкопряда				
восприимчивы			невосприимчивы	
семейство и вид	число гусениц в опыте	из них заболели полиэдрией	семейство и вид	число гусениц в опыте
Сем. Papilionidae			Сем. Attacidae	
Papilio podalirius L.	4	4	Antheraea pernyi Guér. . . .	270
Сем. Nymphalidae			Saturnia pyri Schiff.	15
Vanessa urticae L.	50	45	Сем. Pieridae	
Pyrameis atalanta L.	5	5	Pieris brassicae L.	55
Сем. Orgyidae			Сем. Sphingidae	
Orgyia antiqua L.	47	27		
Acronicta aceris L..	8	4	Sphinx pinastri. L.	10
Сем. Geometridae			Sphinx ligustri L.	10
Biston hirtaria Cl.	5	4	Сем. Lasiocampidae	
Opisthograptis luteolata L. . .	11	10	Dendrolimus pini L.	48
			Macrothylacia rubi L. . . .	20
			Malacosoma neustria L. . . .	30
			Сем. Orgyidae	
			Ocneria dispar L.	50
			Euproctis chrysorrhoea L. . .	100
			Leucoma salicis L..	100
			Сем. Arctiidae	
			Arctia caja L.	40
			Сем. Heterogeneidae	
			Cochlidion limacodes Hufn . .	18
			Сем. Hyponomeutidae	
			Hyponomeuta malinellus Z. .	75

невосприимчивыми к вирусам полиэдренной болезни дубового и тутового шелкопрядов.

Эти данные приводят к выводу, что морфологические особенности полиэдров в основном определяются спецификой вируса, а не клеток и тканей хозяина. Особенно яркой иллюстрацией этого являются случаи, когда один и тот же вид насекомого поражается разными вирусами. Так, например, у гусениц крапивницы Vanessa urticae L., зараженных



Полиэдры из ядер жирового тела и клеток гемолимфы разных видов гусениц. Фиксация жидкостью Буэна, окраска железным гемотоксилином. Ув. 1000 ×.

А —Д — при заражении вирусом дубового шелкопряда; *Е — К* — при заражении вирусом тутового шелкопряда; *А* — у дубового шелкопряда, *Б* — у большого павлиньего глаза, *В* — у соснового бражника, *Г* — у крапивницы, *Д* — у клеверного коконопряда; *Е*—у тутового шелкопряда; *Ж* — у кистехвоста античного, *З* — у боярышниковой пяденицы, *И* — у крапивницы, *К* — у адмирала

вирусом дубового шелкопряда, образуются мелкие полиэдры неправильной формы (рис., *Г*), не отличимые от типичных полиэдров дубового шелкопряда, а у гусениц того же вида и того же возраста, но зараженных вирусом тутового шелкопряда, образуются крупные правильные шестиугольные полиэдры (рис., *И*), не отличимые от типичных полиэдров тутового шелкопряда. Такая же картина наблюдается и у других исследованных нами видов, поражаемых обоими этими вирусами.

В своей недавней работе Смит и Ксерос [6] утверждают, что вполне возможно заражение насекомого двумя разными полиэдренными вирусами.

Нами были проведены опыты по искусственному заражению гусениц крапивницы как порознь вирусами полиэдренной болезни дубового и тутового шелкопряда, так и обоими этими вирусами одновременно. Вид этот оказался очень восприимчивым как к тому, так и к другому вирусу, но вирус тутового шелкопряда проявил несколько бóльшую вирулентность — гибель зараженных им гусениц наступала скорее, чем зараженных вирусом дубового шелкопряда. Попытка заразить гусениц крапивницы одновременно обоими вирусами была сделана дважды. В первом из этих опытов гусеницы третьего возраста были заражены погружением головы в смесь из равных частей неразбавленной гемолимфы, полученной из находившихся в разгаре полиэдренной болезни гусеницы дубового и куколки тутового шелкопряда. Почти все зараженные гусеницы заболели и погибли либо на гусеничной, либо на куколочной стадии, причем у всех у них развились полиэдры типа, свойственного тутовому шелкопряду. Во втором опыте гусеницы третьего возраста были заражены погру-

жением головы в неразбавленную гемолимфу, взятую от больной гусеницы дубового шелкопряда, а спустя три дня эти же гусеницы были снова заражены таким же образом гемолимфой, взятой из больной куколки тутового шелкопряда. В этом случае все заболевшие особи оказались содержащими полиэдры исключительно типа, свойственного дубовому шелкопряду. Таким образом, нужно думать, что вирусы полиэдренной болезни дубового и тутового шелкопряда, подобно многим другим вирусам, проявляют интерференцию.

В заключение остановимся на вопросе о практическом значении полученных в настоящей работе данных для борьбы с желтухой на выкормках дубового шелкопряда. Наши опыты показали, что наиболее часто встречающиеся на выкормках дубового шелкопряда виды диких гусениц (непарник, златогузка, кольчатый коконопряд, лунка серебристая, кистехвост античный) невосприимчивы к вирусу желтухи дубового шелкопряда и, следовательно, не могут служить источником для заражения дубового шелкопряда этим вирусом. Правда, не исключена возможность, что они могут заражать дубового шелкопряда другими полиэдренными вирусами, свойственными данным видам. Однако возможность эта представляется маловероятной. Среди многих тысяч больных желтухой особей дубового шелкопряда, исследованных нами за последние годы на выкормках в разных местах, ни разу не встретилось гусеницы, у которой обнаружились бы полиэдры несвойственного дубовому шелкопряду типа. Между тем полиэдры перечисленных выше диких гусениц по своим морфологическим особенностям достаточно ясно отличаются от полиэдров дубового шелкопряда, и если бы заболевание у этого последнего возникло в результате заражения вирусом от одного из таких диких видов, это можно было бы сразу обнаружить потому, что полиэдры больных особей имели бы нетипичные для дубового шелкопряда форму или размеры.

Таким образом, следует полагать, что роль заражения от диких насекомых в возникновении эпизоотий желтухи у дубового шелкопряда вероятно, невелика. Это совпадает с обширными полевыми эпизоотологическими данными, собранными нами, и опровергает точку зрения, выдвинутую Никифоруком [1].

В то же время необходимо отметить, что, как показали наши опыты, полиэдренная болезнь дубового шелкопряда может передаваться довольно многим другим насекомым, встречающимся на участках, где выкармливается дубовый шелкопряд, или вблизи этих участков, хотя эти насекомые и не являются столь распространенными, как перечисленные выше. Это обстоятельство, несомненно, следует учитывать в практической работе, так как не исключена возможность, что такие дикие насекомые (особенно те из них, у которых заболевание имеет длительный, хронический характер), могут служить резерваторами вируса желтухи дубового шелкопряда, при посредстве которых этот вирус может сохраняться на выкормочных участках более длительное время, чем просто во внешней среде (на листьях, ветках, траве, в верхнем слое почвы и т. д.). Поэтому борьба с дикими насекомыми и особенно дикими гусеницами на выкормочных участках, проводимая путем уничтожения подстилки, обработки участков инсектицидами и т. д., должна являться обязательной составной частью комплекса мероприятий, направленных против желтухи дубового шелкопряда.

Выводы

1. Исследована возможность заражения полиэдренными вирусами дубового и тутового шелкопрядов 49 видов чешуекрылых, принадлежащих к 17 семействам, и трех видов перепончатокрылых из семейства пилильщиков.

2. Показано, что вирусы полиэдренной болезни дубового и тутового шелкопрядов различны, но каждый из них может заражать ряд других видов чешуекрылых. Таким образом, полиэдренные вирусы не обладают строгой видовой специфичностью.

3. Показано, что форма и размеры полиэдров определяются в основном спецификой вируса, а не видовой принадлежностью зараженного насекомого.

4. В возникновении эпизоотий желтухи у дубового шелкопряда заражение от диких насекомых не играет большой роли. В то же время возможность такого заражения нельзя игнорировать, так как некоторые дикие насекомые могут служить резерваторами вируса на выкормочных участках.

Институт зоологии
Академии наук УССР
Киев

Получено 22. II. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никифорук К. С. Желтуха китайского дубового шелкопряда и меры борьбы с ней. Тр. ком. шелк. ВАСХНИЛ, 99, 1947.
2. Тарасевич Л. М. О взаимоотношении вирусов желтухи дубового и тутового шелкопрядов. Микробиология, XVI, 323, 1947.
3. Bergold G. Über Polyederkrankheit bei Insekten. Biol. Ztrbl., **63**, 1943.
4. Smith K. M. Latency in viruses and the production of new viruses. Biol. Rev., **27**, 347, 1952.
5. Smith K. M. a. Xeros N. Transmission of polyhedral viruses between different insect species. Nature, **170**, 492, 1952.
6. Smith K. M. a. Xeros N. Studies on the cross-transmission of polyhedral viruses etc. Parasit., **43**, 178, 1953.
7. Smith K. M., Wyckoff R. W. G. a. Xeros N. Polyhedral virus diseases affecting the privet hawk moth (Sphinx ligustri). Parasit., **42**, 287, 1953.
8. Steinhaus E. A. 1949. Nomenclature and classification of insect viruses. Bact. Rev., **13**, 203, 1949.

ДИСКУССИЯ

УДОБРЕНИЕ И МИКРОФЛОРА ПОЧВЫ

Ю. М. Возняковская

Своевременность обсуждения вопроса о насущных задачах почвенной микробиологии, поднятого журналом «Микробиология»,— несомненна.

Почвенная микробиология должна сыграть свою роль в разработке мероприятий по поднятию урожайности сельскохозяйственных культур. Исходя из этой задачи, нужно считать большим недостатком в работе почвенных микробиологов то, что до сих пор они уделяли слишком мало внимания вопросам, связанным с применением удобрений, которые, как указывается в решениях сентябрьского Пленума ЦК КПСС, являются важным условием для повышения урожаев. Удобрения вносятся в почву с целью обеспечения питания растений. Питание растений в свою очередь связано с деятельностью почвенной микрофлоры.

Почвенная микробиология должна изучать влияние удобрений, особенно органических, на деятельность почвенной микрофлоры. Это является важным моментом, который даст возможность подойти к регулированию микробиологических процессов в почве и направлению деятельности микроорганизмов в полезную для растения сторону. Это поможет также решить ряд практических вопросов таких, как соотношение доз органических и минеральных удобрений, состав компонентов смеси при разных почвенных условиях, качество органического вещества и некоторые другие.

Вопрос о том, что питание растений в почве связано с деятельностью почвенной микрофлоры, в настоящее время не является дискуссионным. Но по вопросу о роли микрофлоры в питании растений имеются существенные разногласия. Положения, высказываемые некоторыми авторами, несомненно, мешают правильно подойти и к решению практических вопросов удобрений. Нельзя согласиться с мнением тех микробиологов (Лазарев — 1949, Березова — 1953, Доросинский — 1953), которые считают, что растение питается продуктами жизнедеятельности микроорганизмов в том смысле, что микроорганизмы перехватывают минеральные вещества из почвы и удобрений и перерабатывают их в какую-то другую форму, которая усваивается растением. Такое представление об участии микроорганизмов в питании растений пока экспериментально не подтверждено и представляется мало вероятным. «Перехватывание» минеральных веществ, или так называемое их биологическое закрепление, имеет место, но эти вещества вновь становятся доступными для растения после отмирания микробных клеток и их последующей минерализации.

Вещества, получающиеся в процессе минерализации органических остатков и других органических веществ, имеющихся в почве, а также вносимых вместе с удобрениями, являются продуктами жизнедеятельности микроорганизмов и используются растением. Наряду с ними могут поступать и такие продукты жизнедеятельности микробов, как витамины, ростовые вещества и др.

Из изложенного выше следует, что изучение условий, которые надо создавать в почве для максимальной деятельности полезной почвенной микрофлоры, является одной из насущных задач почвенной микробиологии. Поэтому совершенно правильно в своей статье Худяков (1954) под-

черкивает, что повышение эффективности органических и минеральных удобрений является теперь не только агрономической, но и микробиологической проблемой. Сейчас агрономическая наука показала, что наиболее эффективным приемом применения удобрений является прием совместного внесения небольших доз органических удобрений (2—5 т/га) в смеси с минеральными удобрениями и что совместное внесение имеет явные преимущества по сравнению с раздельным внесением этих удобрений (Чижевский и Кулаков — 1952, Лысенко — 1953, Власюк — 1953, Тюлин и Беневольский — 1954, Худяков — 1954, Мазилкин — 1954).

Однако разработка агрономической наукой приемов использования органических удобрений шла односторонне, так как не учитывалось значение этих удобрений как источника пищи не только для растений, но и для почвенных микроорганизмов. В свое время Вильямс (1947) отмечал, что, так как почвенные микроорганизмы являются гетеротрофными организмами, т. е. требуют для своего развития органического вещества, то необходимо думать и об их питании, иначе они могут конкурировать с высшим растением за элементы пищи. Исходя из этого, он считал, что вместе с органическими удобрениями микрофлора получает органические вещества как источник энергии и пищи, и при этом большая часть вносимых минеральных удобрений остается в распоряжении зеленых растений, которые также пользуются и элементами пищи, освобождающимися при разложении навоза и тел самих бактерий.

Для того чтобы показать, что утверждение о возможности влиять при помощи удобрений на развитие микроорганизмов в почве не является голословным, можно привести следующий пример. Был произведен учет некоторых групп микроорганизмов в ризосфере озимой пшеницы, удобренной по способу Лысенко, в полевом опыте в Горках-Ленинских (данные Возняковской и Рыжковой, 1954).

Влияние удобрений на количество микроорганизмов в ризосферной почве озимой пшеницы *

Группа микроорганизмов	Контроль без удобрений	Внесена известь, 10 т/га	Внесено 1,8 т перегноя, 7 ц суперф., 0 ц извести
Аммонифиц. бактерии в тыс	40 000	57 000	70 000
Грибы	—	14 000	43 500
Целлюлозоразл. аэробные	100	25 000	6 000
Целлюлозоразл. анаэробные	60	100	2 500
Маслянокислые	2 500	2 500	50 000
Clostridium Pasteurianum	500	50 000	250 000

* Цифры указывают на количество микроорганизмов в 1 г почвы.

Приведенные в таблице цифры показывают, что удобрения оказывают воздействие на микрофлору ризосферы, несмотря на то, что она развивается в непосредственной близости к корневой системе и находится в сфере ее влияния.

Изучение влияния удобрений на разных представителей микрофлоры ризосферы поможет одновременно решить вопрос о степени специфического воздействия корневых выделений растений на эту микрофлору.

В порядке выступления в настоящей дискуссии Доросинский (1954) подробно остановился на вопросах, связанных с разными взглядами на специфичность микрофлоры ризосферы, и отметил, что вопрос о специфике должен быть еще уточнен.

В свете данных, подтверждающих влияние удобрений на микрофлору

ризосферы, следует отметить правильность положения, высказанного Кононовой (1954), о том, что когда микробиологи говорят о селекционирующей роли растения и забывают о воздействии почвы, удобрений и агротехники на микрофлору ризосферы, они совершают серьезную ошибку.

Эта ошибка отчасти отразилась и на том, что для усиления деятельности в почве полезных видов микроорганизмов почвенная микробиология до настоящего времени шла путем обогащения почвы этими видами при помощи их искусственного внесения вместе с семенами высеваемых растений (бактериальные удобрения). При этом недоучитывалось то обстоятельство, что почва и микрофлора, ее населяющая, представляют единое целое, т. е., что направление микробиологических процессов в желаемую сторону зависит не только от обогащения почвы определенной группировкой микроорганизмов, но также и от тех условий, в которые попадают внесенные в почву микроорганизмы. С нашей точки зрения, является большим упущением, что до настоящего времени изучение вопросов, связанных с использованием бактериальных удобрений, проводилось односторонне: много внимания уделялось изучению активности культур, методам их размножения на питательных средах, дозировкам и пр. и значительно меньше внимания уделялось уточнению почвенных условий, при которых целесообразно применять препараты.

Зачастую не учитывалось, что для получения положительного эффекта от применения бактериальных удобрений активные и внесенные в достаточном количестве культуры должны попасть в такие условия, в которых они могут проявить свою жизнедеятельность и оказать влияние на растение.

Несомненно, что одним из путей повышения эффективности бактериальных удобрений является их сочетание с органическими и минеральными удобрениями. По данным Образцовой (1949) и Оксентьян (см. Березова, Бородулина и др., 1951), азотобактер при недостатке фосфора в почве не только не оказывает положительного влияния на растение, но иногда даже может становиться конкурентом растения по отношению к этому элементу, что сказывается отрицательно на урожае.

Здесь же хотелось бы отметить, что, очевидно, во многих случаях при использовании бактерий, способных усваивать атмосферный азот, в целях улучшения азотного питания растений следует обратить внимание на то, что в разных условиях могут играть роль разные виды азотфиксаторов. Больше внимания следует уделить Clostridium Pasteurianum.

Известно, что любая система удобрений не может быть универсальной для всех почвенно-климатических условий. Точно так же в разных почвенно-климатических условиях будут активироваться разные виды бактерий. В настоящее время из поля зрения исследователей выпадает ряд видов, способных усваивать атмосферный азот. Слабый интерес к ним объясняется тем, что в чистых культурах они фиксируют незначительные количества азота. Однако, если учесть, что в почве эти виды встречаются в очень больших количествах и что они ведут себя там иначе, чем в чистой культуре, то можно думать, что в ряде случаев их также нельзя сбрасывать со счета. Многие из этих микроорганизмов встречаются в больших количествах на корневой системе растений, например, бактерии типа Radiobacter, Azotomonas insolata, Mycobacterium oligonitrophilum и др. Сейчас имеются наблюдения, что удобрения, вносимые в почву, влияют не только на микрофлору ризосферы, но также и на корневую микрофлору. Собственно корневая микрофлора, обильно населяющая поверхность корней, до настоящего времени изучалась очень мало. Почти нет работ, устанавливающих ее видовой состав, физиологические особенности разных ее представителей, а также влияние почвенных условий, удобрений, вида растений на качество и количество этой микрофлоры. Между тем вряд ли можно думать, что растение относится индифферентно к боль-

шому количеству микроорганизмов, находящихся на его корнях. Несомненно, что малый интерес, который проявлялся до сих пор к этой микрофлоре и ее взаимоотношениям с почвенной микрофлорой и с растением, нельзя считать обоснованными.

В заключение хочется отметить, что перед почвенной микробиологией стоят большие и ответственные задачи, поэтому очень важно сконцентрировать внимание исследователей на коренных вопросах участия микроорганизмов в почвенном питании растений.

Получено 9. XI. 1954

ЛИТЕРАТУРА

Березова Е. Ф. О роли микроорганизмов в питании растений. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», стр. 6. Сельхозгиз, 1953.
Березова Е. Ф., Бородулина Ю. С., Оксентьян У. Г., Финкельштейн М. Я., Певзнер Р. И. Влияние известкования на микрофлору почвы и корневой системы растений. Тр. Ин-та с.-х. микробиологии, 12, 146, 1951.
Вильямс В. Р. Почвоведение, стр. 445, 1947.
Власюк П. А. Задачи агробиологической науки в области питания растений. Земледелие, № 6, 11, 1953.
Возняковская Ю. М. и Рыжкова А. С. Влияние смеси органических и минеральных удобрений на микрофлору почвы. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 6, 30, 1954.
Доросинский Л. М. К вопросу о роли микроорганизмов в корневом питании растений. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», стр. 19. Сельхозгиз, 1953.
Доросинский Л. М. О некоторых дискуссионных вопросах, почвенной микробиологии. Микробиология, XXIII, вып. 5, 600, 1954.
Доросинский Л. М. и Лазарев Н. М. Роль микроорганизмов в корневом питании растений. Агробиология, № 4, 39, 1949.
Кононова М. М. Некоторые дискуссионные вопросы в области почвенной микробиологии. Микробиология, XXIII, вып. 4, 485, 1954.
Лысенко Т. Д. Задачи науки о почвенном питании растений и повышении урожайности сельскохозяйственных культур. Земледелие, № 5, 17, 1953.
Мазилкин И. А. Влияние углекислого кальция на микробиологические процессы в солонцевато-осолоделых почвах. ДАН СССР, XCV, № 2, 1954.
Образцова А. А. О роли азотобактера в фосфорном питании растений. Тр. Ин-та физиологии растений АН СССР, III, вып. 2, 1949.
Тюлин В. И. и Беневольский С. А. Применение органоминеральных удобрений на дерново-подзолистых почвах. Агробиология, № 1, 98, 1954.
Худяков Я. П. Современное состояние и задачи микробиологии почвы. Микробиология, XXIII, вып. 3, 331, 1954.
Чижевский М. Г. и Кулаков Е. В. О совместном внесении органического и минерального удобрения. Почвоведение, № 5, 443, 1952.

ОБЗОРЫ

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ СИСТЕМАТИКИ АКТИНОМИЦЕТОВ

Г. Ф. Гаузе

В настоящее время актиномицеты приобрели большое практическое значение как продуценты антибиотических веществ, подавляющих бактерии, риккетсии и некоторые крупные вирусы, которые играют важную роль в медицинской практике при лечении ряда инфекционных заболеваний. Кроме того, у актиномицетов обнаружены и такие антибиотики, которые подавляют рост злокачественных опухолей и инактивируют мелкие вирусы, например, вирус гриппа. Правда, в силу ряда причин эти антибиотики не нашли пока практического применения, но они представляют большой интерес в химическом отношении и подвергаются интенсивному изучению в ряде лабораторий.

Большое практическое значение антибиотиков, образуемых актиномицетами, привело к тому, что вместо немногочисленных исследователей-одиночек, изучавших эти микроорганизмы еще десять лет тому назад, в настоящее время изучением строения, классификации, экологии и распространения актиномицетов заняты крупные коллективы исследователей в ряде институтов и университетов.

Несомненно, что большое внимание, которое уделяется в настоящее время этим микроорганизмам в связи с запросами практики, будет способствовать более глубокому микробиологическому изучению актиномицетов и явится стимулом для разрешения ряда теоретических вопросов. Положение дела в настоящее время здесь близко напоминает закономерность, неоднократно отмеченную в других областях ботаники — мы хорошо знаем, например, что углубленное изучение биологии лекарственных растений, проводимое в связи с практическим использованием образуемых ими лекарств, издавна служило одним из крупных стимулов для развития научной ботаники.

Одним из важнейших теоретических вопросов изучения актиномицетов в данный момент является разработка рациональной классификации этих организмов. Не приходится доказывать, что тщательно и глубоко разработанная систематика определенной группы организмов является самой надежной основой для изучения вопросов их экологии и географического распространения. Вместе с тем при отсутствии надежной классификации изучение вопросов экологии и географического расселения лишается серьезной научной основы.

К сожалению, вопросы систематики актиномицетов не привлекают к себе должного внимания исследователей. Для сравнения здесь можно указать, например, на проблему классификации вирусов, которая также имеет важное практическое значение. Как известно, эта проблема подверглась в последние годы всестороннему критическому обсуждению как на страницах периодической печати, так и в ряде специальных книг и монографий.

Для того чтобы правильно оценить современное состояние систематики актиномицетов, а также определить насущные нужды ее дальнейшей разработки, необходимо ознакомиться с фактическим положением дела в этой области.

Как известно, в настоящее время исследователи в различных институтах и лабораториях выделяют ежегодно сотни тысяч новых культур актиномицетов из различных почвенных проб и выявляют среди них продуцентов новых антибиотиков. Морфологические и культуральные свойства продуцентов новых антибиотиков подробно изучаются, и определяется систематическое положение этих продуцентов. На основании некоторых данных, опубликованных по этому вопросу в литературе различными авторами, нами составлена табл. 1, которая содержит сведения о систематическом положении продуцентов ряда новых антибиотиков, описанных и изученных в последние годы.

Как показывает табл. 1, все описанные в последние годы продуценты новых антибиотиков оказались новыми видами актиномицетов, ранее не известными в науке, сведений о которых не имелось ни в одном из определителей актиномицетов. Вряд ли приходится сомневаться в том, что среди сотен тысяч культур актиномицетов, ежегодно выделяемых из почвы в различных лабораториях, которые отбрасываются как не представляющие интереса в антибиотическом отношении, также имеется очень большое количество новых видов, которые остаются неописанными. Это, без сомнения, имеет место во многих зарубежных лабораториях, ведущих работу по изысканию новых антибиотиков по заданию коммерческих фирм, которые ставят перед собой узко утилитарные задачи и совсем не заинтересованы в углубленной разработке научной стороны вопроса.

Фактические данные, представленные в табл. 1, позволяют сделать следующий вывод. Поскольку все вновь выделенные из почвы культуры актиномицетов, представляющие интерес в антибиотическом отношении, оказались новыми видами, не описанными в определителях, то это свидетельствует о совершенно недостаточной изученности актиномицетов в систематическом отношении и о слабой разработке их классификации.

При оценке данных, приведенных в табл. 1, следует учитывать, что в последнем издании определителя Бердже, опубликованном в 1948 г., раздел об актиномицетах, написанный Ваксманом, содержит описание 73 видов актиномицетов. В определителе актиномицетов Красильникова, изданном в 1941 г., приводится 47 видов, а в издании 1949 г. приводится 53 вида актиномицетов. Отсюда следует заключить, что в 1952 и 1953 гг. было описано весьма большое число новых видов актиномицетов, образующих новые антибиотики, причем число этих новых видов составляет значительную долю от общего числа всех до сих пор описанных видов лучистых грибков.

Необходимо отметить, что систематика актиномицетов связана с разрешением двух различных проблем. Первая проблема заключается в установлении более крупных систематических подразделений — семейств и родов — и выявлении взаимоотношений между ними. До сих пор эта проблема привлекала к себе наибольшее внимание. Было предложено 15 различных систем классификации актиномицетов, из которых первая опубликована Шабадом в 1904 г., а последняя — Красильниковым в 1949 г. Эти системы приведены в книге Ваксмана (Waksman, 1950). Согласно классификации, предлагаемой Красильниковым, лучистые грибки делятся на два семейства — Actinomycetaceae, представители которого имеют многочисленные споры, расположенные цепочками на ветках воздушного мицелия, и Micromonosporaceae, представители которого на ветках имеют одиночные споры. Семейство Actinomycetaceae подразделяется на два рода: Actinomyces, к которому относятся культуры с хорошо развитым несептированным мицелием, и Proactinomyces, к которому относятся культуры, мицелий которых септирован и быстро распадается на палочки и кокки. Эта система классификации является общепринятой и широко используется микробиологами. Ваксман (Waksman и др., 1948) предложил лучистые грибки с септированным мицелием относить к семейству Actinomycetaceae, которое подразделил на два рода: Actinomyces

Таблица 1

Систематическое положение актиномицетов, образующих некоторые новые антибиотики

Название антибиотика	Систематическое положение продуцента		Название вида	Автор и дата описания
	новый вид	ранее описан		
Стрептограмин	+	—	A. graminofaciens	Чарный, 1953
Сарцидин	+	—	A. achromogenes	Такеуши, 1953
Амфомицин	+	—	A. canus	Хейнеман, 1953
Амицетин-1	+	—	A. vinaceus-drappus	Хинмен, 1953
Амицетин-2	+	—	A. fasiculatus	Мак-Кормик, 1953
Шартрезин	+	—	A. chartreusis	Лич, 1953
Колиномицин	+	—	A. collinus	Брокман, 1953
Родоцидин	+	—	A. phoenix	Чарный, 1953
Актиномицин С	+	—	A. chrysomallus	Линденбейн, 1952
Родомицин	+	—	A. purpurascens	Линденбейн, 1952
Пикромицин	+	—	A. felleus	Линденбейн, 1952
Резистомицин	+	—	A. resistomycificus	Линденбейн, 1952
Ахромицин	+	—	A. albo-niger	Портер, 1952
Актитиазиновая кислота	+	—	A. virginiae	Грунди, 1952
Циннамицин	+	—	A. cinnamoneus	Бенедикт, 1952
Аскозин	+	—	A. canescus	Хикей, 1952
Виомицин	+	—	A. floridae	Финлей, 1951
Террамицин	+	—	A. rimosus	Финлей, 1950
Ауреомицин	+	—	A. aureofaciens	Дуггар, 1948
Хлоромицетин	+	—	A. venezuelae	Эрлих, 1948

(анаэробы, паразиты) и Nocardia (аэробные формы). Лучистые грибки с несептированным мицелием этот автор относит к семейству Streptomycetaceae, которое подразделяет также на два рода — Streptomyces (многочисленные споры на ветках воздушного мицелия) и Micromonospora (одиночные терминальные споры). Термофильные виды Micromonospora были выделены Ваксманом и Лешевалье (Waksman a. Lechevalier, 1953) в особый род Thermoactinomyces. Практические неудобства классификации Ваксмана состоят в том, что хорошо известный род Proactinomyces он переименовывает в Nocardia, а хорошо известный в течение последних 50 лет род Actinomyces, к которому относится большинство сапрофитных форм лучистых грибков, переименовывается в новый род Streptomyces. Род Actinomyces, по предложению Ваксмана, сохраняется только за двумя видами паразитических лучистых грибков — Actinomyces bovis и Actinomyces israeli.

Теоретическая необоснованность классификации Ваксмана состоит в том, что роды Proactinomyces (= Nocardia) и Actinomyces (= Streptomyces), филогенетическая близость которых была показана рядом исследований, относятся Ваксманом к различным семействам, а роды Actinomyces (= Streptomyces) и Micromonospora, которые весьма далеки друг от друга, объединяются в одно семейство. По указанным соображениям классификация Ваксмана была отвергнута многими исследователями и подверглась серьезной критике на международном конгрессе микробиологов в Риме в 1953 г. (Negroni, 1953; Baldacci, 1953).

Вторая проблема систематики, которой и посвящена настоящая статья, заключается в установлении видов у актиномицетов. Именно эта проблема имеет в настоящее время большое практическое значение. Как правило, различные виды актиномицетов образуют различные антибиотики (см. табл. 1), и даже различные химические варианты определенного

антибиотика образуются обычно лучистыми грибками, которые четко отличаются друг от друга в систематическом отношении, как это наблюдалось, например, у продуцентов различных вариантов актиномицина. Таким образом, точное определение систематического положения выделенных из почвы культур актиномицетов-антагонистов, продуцентов антибиотиков, имеет первостепенное практическое значение, ибо оно часто может дать важнейшие указания о природе образуемых этими грибками химических соединений.

Между тем современные определители актиномицетов не удовлетворяют запросам практики, поскольку в них нет места для многих выделяемых из почвы культур этих организмов. В результате многие продуценты новых антибиотиков остаются совсем без видовых названий, как, например, продуцент противоракового антибиотика азасерина (Stock, 1954), а также многих других недавно описанных новых антибиотиков, в отношении которых указано, что они образуются каким-то новым видом Actinomyces sp., которого нет в определителях. Вновь описанные новые виды актиномицетов, которые приведены в табл. 1, являются лишь небольшой частью новых форм этих организмов, с которыми встретились исследователи в последние годы.

Чтобы уяснить, почему современная систематика актиномицетов не удовлетворяет запросам практики и почему многие вновь выделяемые культуры этих организмов остаются без видовых названий, необходимо сказать несколько слов об истории создания этой систематики и о том фактическом материале, который был использован при ее разработке.

Микробиологи впервые начали изучать актиномицеты около 60 лет тому назад, в 90-х годах прошлого века (первые сведения о лучистых грибках появились несколько раньше, в 1875 г.). В то время было известно лишь очень небольшое число культур лучистых грибков, выделенных из воздуха, растительных остатков и из почвы. В первом десятилетии текущего века полагали, что в природе имеется всего лишь несколько видов актиномицетов. Это предположение основывалось на наблюдении за ростом этих организмов на сложных органических средах. При наличии белого воздушного мицелия говорили о виде albus; выделение черного или коричневого пигмента в окружающую среду указывало на вид chromogenus; образование характерного запаха земли — на вид odorifer; культуры, патогенные для животных, относились к виду bovis, а патогенные для картофеля — к виду scabies.

Первая обстоятельная монография по актиномицетам, опубликованная Лиске (Lieske) в 1921 г., любопытна тем, что автор ее отрицал возможность классификации актиномицетов на определенные виды. Он изучил 100 различных культур актиномицетов, которые выращивал исключительно на средах со сложными органическими источниками азота, и убедился в большой изменчивости их морфологических свойств, в результате чего у актиномицетов будто бы «нельзя установить определенных видов, подобно высшим организмам». Далее Лиске писал: «Насколько бесполезны приводимые в литературе описания отдельных видов, следует из того, что среди 100 очень тщательно изученных культур актиномицетов нам ни в одном случае не удалось бесспорно идентифицировать хотя бы один штамм с одним из описанных в литературе видов лучистых грибков».

В настоящее время неудачу Лиске объясняют тем, что при культивировании актиномицетов он не использовал простых синтетических сред с минеральным источником азота, которые наиболее благоприятны для выявления характерных систематических признаков и установления видовых различий. Заслуга введения синтетических питательных сред в систематику актиномицетов бесспорно принадлежит русскому микробиологу Краинскому (1914). Синтетические среды в дальнейшем использовал Ваксман (1916). Вскоре после введения этих сред исследователи убеди-

лись в большом разнообразии актиномицетов, и был описан ряд новых видов на основании окраски их мицелия на синтетической среде — ruber, roseus, flavus, glaucus, viridis, lavendulae, violaceus, cyaneus, niger и другие.

Тем не менее систематика актиномицетов продолжала оставаться очень слабо разработанной, как об этом свидетельствует, например, работа Иенсена (Jensen), опубликованная в 1930 г. Автор изучил распространение актиномицетов в различных почвах и пришел к выводу, что большинство культур, выделенных из почвы, не поддается определению и установить их видовую принадлежность невозможно. Это объясняется не поверхностным изучением вновь выделенных культур, а серьезными дефектами имевшихся в то время определителей, которые 1) используют для идентификации видов недостаточное количество признаков, 2) нелогично строят схему определения и 3) слабо описывают отдельные виды.

Что же изменилось за четверть столетия, истекшую после опубликования работы Иенсена?

В период с 1930 по 1944 г. значительно возрос интерес к изучению актиномицетов и, что весьма существенно, увеличился масштаб работы морфологов-систематиков. Если в начале этого периода систематик мог иметь в своем распоряжении около сотни культур, выделенных из различных почв (как, например, Лиске в 1921 г.), то к концу указанного периода систематики при разработке вопросов классификации располагали уже несколькими тысячами культур. В основном разработка вопросов систематики актиномицетов происходила в эти годы в двух центрах — в лаборатории Красильникова в Академии наук СССР и в лаборатории Ваксмана.

При описании видов у актиномицетов Ваксман и Красильников использовали различные признаки, и здесь необходимо дать критический разбор исследований этих авторов. Ваксман в основу классификации всегда клал культуральные признаки лучистых грибков. Он полагает, что окраски мицелия и образование пигментов на синтетических и органических средах являются важнейшими признаками, которые следует использовать при описании новых видов. При наличии сред точно определенного состава и постоянных условий культивирования эти признаки имеют решающее диагностическое значение. Неудачи, постигшие первых систематиков актиномицетов, по его мнению, связаны с тем, что они недостаточно стандартизировали условия культивирования и не учитывали изменений культуральных признаков в зависимости от состава питательной среды, аэрации и температуры. Кроме того, многие исследователи при определении видов у актиномицетов не производили сравнения своих культур с типичными культурами, а сравнивали их лишь с описаниями видов, которые часто недостаточны для точного определения видов.

Первая попытка использовать строение органов плодоношения для классификации актиномицетов была сделана Дрекслером (Drechsler, 1919), который изучал строение спороносцев на ветках воздушного мицелия. Он различал слабо ветвящиеся спороносцы, сильно ветвящиеся, спиральные, закрученные по часовой стрелке или против нее. К сожалению, Дрекслер не стал изучать большого числа культур актиномицетов на стандартных средах, не произвел достаточно глубокого морфологического анализа строения спороносцев у этих культур и не сумел доказать диагностического значения предложенных им морфологических признаков. Ваксман и ряд других авторов подвергли критике диагностическое значение морфологических признаков, ибо, по их мнению, эти признаки подвержены значительной изменчивости и сильно зависят от состава питательной среды. Так, например, Actinomyces coelicolor обычно образует спиральные спороносцы, но на некоторых питательных средах он обладает только прямыми спороносцами. Однако следует отметить, что в этом отношении имеются значительные различия между отдельными видами

и описаны как виды с весьма постоянным, так и с довольно изменчивым строением органов плодоношения.

Поскольку Ваксман при описании видов у актиномицетов пользовался исключительно культуральными признаками и не учитывал морфологических и многочисленных других свойств, имевшихся в его распоряжении культур, то разработанная им классификация страдает значительной односторонностью, как это можно видеть на нескольких конкретных примерах, которые мы здесь приведем.

Первый яркий пример касается систематического положения лучистых грибков, чрезвычайно широко распространенных, в особенности в черноземных почвах, которые Ваксман (определитель Бердже, 1948) отнес к виду Actinomyces lavendulae. Более подробно описывая представителей этого вида, Ваксман (1951) отмечает, что принадлежность лучистого грибка к виду Act. lavendulae определяется характерной розовой окраской воздушного мицелия на синтетической среде и способностью образовывать растворимый коричневый или черный пигмент на питательных средах с органическим азотом. Каждый микробиолог, выделявший из почвы культуры лучистых грибков, прекрасно знает представителей этого вида, которые широко распространены в природе. Описывая строение органов плодоношения у различных штаммов Act. lavendulae, Ваксман приводит данные, сведенные нами в табл. 2.

Таблица 2

Строение спороносцев у различных штаммов Act. lavendulae, по данным Ваксмана (1951)

№ штамма	Строение спороносцев
3330	Спиральные спороносцы, овальные споры
3440	Длинные прямые спороносцы, не образуют спиралей
3445	То же
3516	Спороносцы образуют немногочисленные, короткие спирали
3526	Длинные прямые спороносцы без спиралей
3530	Спороносцы закручены в плотные спирали
3531	То же
3532	Спороносцы образуют немногочисленные спирали
3534	Длинные прямые спороносцы без спиралей
3542	Прямые короткие гифы без спиралей
3555	Длинные прямые спороносцы, сферические или овальные споры

Как показывает табл. 2, Ваксман не придает никакого диагностического значения строению спороносцев и к одному и тому же виду относит культуры, имеющие как прямые, так и спиральные спороносцы на синтетической питательной среде.

Имеющийся в нашем распоряжении обширный материал показывает, что создание Ваксманом вида Act. lavendulae на основании двух культуральных признаков (окраска мицелия на синтетической среде и выделение растворимого коричневого пигмента на органических средах), без учета строения органов плодоношения, антагонистических свойств, а также и других признаков недостаточно обосновано. Мы имеем здесь дело с несколькими различными видами, которые совершенно искусственно объединены в один вид.

Второй пример, который необходимо здесь привести, касается систематического положения продуцентов стрептомицина и гризеина, которые Ваксманом отнесены к виду Act. griseus (синоним Act. globisporus Красильникова). На основании того, что различные штаммы этих продуцентов обладают некоторыми общими культуральными признаками, Ваксман объ-

единяет их в один вид и не обращает внимания на весьма существенные различия этих продуцентов по ряду свойств, которые указаны нами в табл. 3.

Таблица 3

Некоторые свойства продуцентов стрептомицина и гризеина, по данным Ваксмана (1948)

№ штамма	Образуемый антибиотик	При пересечении на агаровой пластинке подавляются культурой		Чувствительность к актинофагу 3463
		3463	3478	
3463	Стептомицин	—	+	+
3464	»	Сл.	+	+
3481	»	—	+	+
3478	Гризеин	+	—	—
3510	»	+	—	—
3527	»	+	—	—

Как показывает табл. 3, продуценты стрептомицина и гризеина весьма существенно отличаются друг от друга по следующим признакам. Во-первых, при испытании антагонистического действия продуценты стрептомицена не угнетают друг друга, но подавляют рост продуцентов гризеина. В свою очередь, продуценты гризеина не действуют друг на друга, но подавляют рост продуцентов стрептомицина [1]. Во-вторых, специфический актинофаг лизирует только продуцентов стрептомицина и не лизирует продуцентов гризеина. К сожалению, Ваксман не изучил отношения этих продуцентов к различным сахарам и не произвел серологических исследований. Он отказался от разграничения имеющихся здесь по всем данным различных видов только потому, что у них имеются некоторые общие культуральные признаки.

По данным японского исследователя Оками (Okami, 1950), продуценты стрептомицина резко отличаются от продуцентов гризеина по способности использовать различные углеводы на среде с $NaNO_3$ в качестве единственного источника азота. Продуценты стрептомицина на этой среде используют лишь мальтозу, но не глюкозу, сахарозу или глицерин. Продуценты гризеина используют все четыре упомянутые субстрата. В присутствии сернокислого аммония эти различия исчезают. Как указывает ряд авторов, отношение к различным источникам углерода может быть широко использовано при описании видов у актиномицетов (Stapp, 1953).

Приведенные выше примеры показывают, что при описании новых видов актиномицетов Ваксман пользуется только некоторыми общими культуральными признаками, в ущерб всем остальным. В отличие от этого, Красильников описывает виды у актиномицетов исключительно по строению органов плодоношения и не придает диагностического значения их культуральным свойствам. Нам кажется, что широкое использование Красильниковым формы спороносцев и спор, наблюдаемых при выращивании актиномицетов на синтетических средах, с целью установления видов этих организмов явилось существенным шагом вперед, и определитель лучистых грибков этого автора, разработанный в 1935—1940 гг., имел прогрессивное значение. Недостаток определителя Красильникова состоит, однако, в том, что строение спороносцев и спор для этого автора

[1] Тейльон (Teillon, 1953) придает этому признаку большое значение при описании видов актиномицетов.

имеет исключительное и решающее значение. Подобно тому как Ваксман не придает диагностического значения строению спороносцев и при установлении видов учитывает только культуральные свойства штаммов (см. табл. 2), так и Красильников не придает диагностического значения культуральным свойствам штаммов и при установлении видов учитывает только строение спороносцев и спор [2].

Для иллюстрации сказанного необходимо привести некоторые примеры. Красильников считает форму спор актиномицета решающим видовым признаком. Поэтому, имея дело с двумя штаммами желтого актиномицета, крайне близкими по всем культуральным и физиологическим свойствам, которые различаются только формой спор, он относит штамм с овальными спорами к виду Act. flavus, а штамм с цилиндрическими или продолговатыми спорами к совершенно другому виду — Act. longisporus flavus. Этот последний вид был создан в 1941 г. Красильниковым, который основывался при этом только на форме спор. Совершенно так же и красный актиномицет, имеющий шаровидные или овальные споры, будет отнесен к виду Act. ruber, а крайне близкая по культуральным, морфологическим и физиологическим свойствам культура, отличающаяся лишь продолговатыми спорами вместо овальных, будет отнесена Красильниковым к другому, созданному им, новому виду — Act. longisporus ruber (см. Красильников, 1949, стр. 62).

Подводя итоги, можно сказать, что как Ваксман, так и Красильников, описывая новые виды актиномицетов, проявляют односторонность. Ваксман придает диагностическое значение только культуральным признакам и не учитывает строения органов плодоношения, считая его весьма изменчивым. Красильников придает диагностическое значение исключительно строению органов плодоношения и не учитывает культуральных признаков, считая их изменчивыми.

Проблема рациональной классификации актиномицетов на отдельные виды детально обсуждалась на международном конгрессе микробиологов в Риме в 1953 г. В обстоятельном докладе итальянского исследователя Бальдаччи и его учеников была подвергнута критике классификация Ваксмана, который при описании видов использует исключительно культуральные признаки. Если в определитель Ваксмана 1948 г. было включено 73 вида актиномицетов, то в определителе Ваксмана и Лешевалье в 1953 г. учитывается уже 147 видов. Это показывает, что классификация актиномицетов в настоящее время очень интенсивно разрабатывается и еще далеко не приняла окончательную, устоявшуюся форму.

В основу классификации актиномицетов Бальдаччи (Baldacci, 1953) предлагает класть макроскопические признаки культур, в первую очередь окраску вегетативного и воздушного мицелия. При этом, по мнению Бальдаччи, такие «виды» актиномицетов, как griseus, albus, flavus и др., представляют собой в действительности не виды, а более крупные систематические категории, которые могут быть разделены на отдельные виды.

Бальдаччи предлагает подразделить актиномицеты рода Actinomyces сперва на секции — по окраске субстратного мицелия, секции подразделить на серии — по окраске воздушного мицелия, а в пределах серий описывать отдельные виды, основываясь на более тонких морфо-культуральных и биологических признаках. Он описывает 21 серию видов и указывает, что в процессе дальнейшей работы число серий может быть еще увеличено.

---

[2] Как отмечает Штапп (Stapp, 1953), число и характер завитков спороносцев могут быть очень различны на разных средах у одного и того же штамма, и этот признак имеет сомнительное таксономическое значение. Однако способность к образованию спиралей сохраняется при культивировании и может служить видовым признаком. По мнению Хесселтайна (Hesseltine, 1954), форма и величина спор не имеют существенного значения при классификации видов актиномицетов.

В наиболее развернутой форме данная система классификации приведена в работе Бальдаччи, Спалла и Грейн (Baldacci, Spalla a. Grein, 1954). Эти авторы отмечают, что окраска спор воздушного мицелия значительно более постоянна и устойчива, чем окраска субстратного мицелия. С этой точки зрения, более логично подразделять виды актиномицетов на группы в первую очередь по окраске воздушного, а не субстратного мицелия, как это и предлагают Флайг и Кутцнер (Flaig u. Kutzner, 1954). Необходимость объединения близких видов актиномицетов в определенные группы неоднократно отмечалась, как известно, Красильниковым и Ваксманом.

В общем несомненно, что при установлении видов необходимо использовать всю совокупность наших сведений об актиномицетах и учитывать не только одни какие-либо признаки, в ущерб всем остальным. В основу классификации должны быть положены морфологические, культуральные, биохимические, серологические, экологические и все другие признаки, какие мы только сможем использовать. Рациональная систематика актиномицетов, которая крайне необходима для разрешения ряда практических вопросов, должна быть создана на основании глубокого и всестороннего изучения этих организмов. Работа над созданием такой систематики потребует больших усилий и является одной из важнейших задач. Как справедливо указывает Кудрявцев (1954), систематика видов должна строиться на специфических приспособительных признаках, находящих свое отражение в различии культуральных и морфологических свойств.

В настоящее время имеются весьма благоприятные условия для дальнейшей плодотворной работы над систематикой актиномицетов. Следует отметить, что определители актиномицетов Ваксмана и Красильникова, которые нами выше критически рассмотрены, были созданы, в основном, в период 1930—1944 гг., когда актиномицеты еще почти не использовались как продуценты антибиотических веществ и не привлекали к себе такого большого внимания исследователей, как в настоящее время. В распоряжении авторов этих определителей находилось несколько тысяч культур лучистых грибков. Однако за последнее десятилетие размах исследовательской работы по актиномицетам резко возрос и перешел на новый уровень. Во многих институтах, ведущих работу по изысканию новых антибиотиков, ежегодно из различных почв выделяют сотни тысяч новых культур актиномицетов. Эта работа ясно показала, что лучистые грибки не являются узко специализированной группой организмов, состоящей из небольшого числа видов, а представляют собой весьма большую и разнообразную группу живых существ, включающую, повидимому, многие тысячи видов, которые распространены в различных субстратах и принимают участие во многих природных процессах.

Поскольку работа по выделению новых культур актиномицетов из различных природных источников за последнее десятилетие по своему размаху перешла на новый уровень и оставила далеко позади масштаб работы в этой области, имевший место в 1930—1944 гг., то совершенно естественно, что исследователи в последние годы познакомились с таким разнообразием форм актиномицетов, которого не имели и не могли иметь микробиологи десять лет тому назад при составлении определителей лучистых грибков.

Именно поэтому не удаются попытки некоторых зарубежных микробиологов каждую вновь выделенную форму актиномицета обязательно «втиснуть» в один из видов определителя Ваксмана — Бердже, хотя эта форма явно там отсутствует. Большинство исследователей избегает описывать новые виды, чтобы не усложнять систематику. Однако весь ход научного изучения актиномицетов за последние 50 лет ясно показывает, что лучистые грибки до последнего времени были слабо изучены и многие виды этих организмов до сих пор не описаны. Не следует забывать, что описано свыше 700 видов плесневых грибов рода Penicillium, а число

видов актиномицетов, повидимому, значительно больше. В связи с этим безусловно необходимо давать научные названия новым формам лучистых грибков, с которыми мы встречаемся в практической работе, в том случае, если эти формы не были описаны до сих пор и отсутствуют в известных определителях.

В случае актиномицетов мы имеем дело с культурами, выделяемыми из природных субстратов. В том случае, если эти культуры тождественны, это значит, что они принадлежат к одному и тому же биотипу. Иногда биотип может быть представлен только одной культурой. Биотипы, которые отличаются друг от друга несущественными признаками, и при этом главным образом лишь в количественном отношении, могут быть отнесены к одному виду. Задача систематики состоит в том, чтобы сгруппировать биотипы в реально существующие в природе виды, на основании их сходства по существенным признакам. Описание и характеристика вида должны подходить ко всем биотипам данного вида. В связи с этим следует напомнить характеристику понятия вида у микроорганизмов, приведенную Красильниковым, к которой можно вполне присоединиться: вид представляет собой совокупность родственных организмов, которые на данном этапе эволюционного развития характеризуются общими морфологическими и физиологическими признаками, обособлены, в большей или меньшей степени, отбором и приспособлены к определенным условиям существования.

После открытия антибиотиков потребность в классификации штаммов актиномицетов и точном определении их принадлежности к определенным видам стала особенно острой. Приведенная нами в начале этой статьи табл. 1 ясно показывает, что в 1952 и 1953 гг. микробиологи стали на путь описания большого числа новых видов у актиномицетов, образующих новые антибиотики, поскольку выделяемые из почвы культуры этих грибков не могут быть отнесены к описанным до сих пор видам. Вряд ли приходится сомневаться в правильности этого пути — создания точно описанных новых видов актиномицетов на основании всестороннего изучения их признаков на достаточном числе различных питательных сред. Эта работа будет способствовать более углубленному изучению актиномицетов и послужит основой для создания новой систематики этих организмов. Повидимому, многие «виды» актиномицетов, фигурирующие в современных определителях, вовсе не являются видами, а объединяют ряд различных видов — отсюда и необычайная пестрота приписываемых им биохимических, культуральных и морфологических свойств.

Исследователи, изучающие химические вещества, образуемые актиномицетами, в первую очередь заинтересованы в быстрейшей разработке рациональной новой систематики этих организмов. Такая систематика позволит нам подходить к каждой культуре лучистого грибка, выделяемой из почвы, не как к неизвестному организму, от которого мы можем ожидать синтеза любого химического соединения, а как к представителю определенного вида, видовая специфика которого определяет химическую природу образуемых им веществ. Для примера можно указать, что недавно описанный новый вид лучистого грибка Act. chrysomallus (см. табл. 1) образует определенный химический вариант актиномицина — актиномицин С, обладающий противораковым действием, в молекулу которого входит хромофорная группа и шесть аминокислот. Другой вид лучистого грибка образует иной химический вариант актиномицина, содержащий идентичную хромофорную группу и пять аминокислот. Таким образом, систематическое положение продуцента может дать руководящие указания о химической природе образуемых их химических соединений. Отсюда следует, что дальнейшая углубленная разработка систематики актиномицетов может иметь большое практическое значение для решения ряда важных научных проблем.

У нас есть все основания присоединиться к тому призыву, с которым

С. Н. Виноградский (1952) обратился к микробиологам в одной из своих последних работ: «Я рекомендую микробиологам, не удовлетворенным современной систематикой, перестроить ее и сделать более простой и, по моему мнению, более рациональной».

Институт по изысканию новых антибиотиков
Академии медицинских наук СССР
Москва

Получено 21. VI. 1954. г.

ЛИТЕРАТУРА

Виноградский С. (Winogradsky S.) Sur la classification des bactéries. Ann. Inst. Pasteur, 82, 125, 1952.
Краинский А. (Krainsky A.). Die Actinomyceten und ihre Bedeutung in der Natur Ztbl. Bakt., II, 41, 649, 1914.
Красильников Н. А. Определитель лучистых грибков. М., 1941.
Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. М., 1949.
Кудрявцев В. И. Систематика дрожжей. М., 1954.
Baldacci E. General criteria for the systematics of genera and species of Actinomyces (Streptomyces). Symposium 6th Intern. Congress Microbiol. Actinomycetales, p. 20. Roma, 1953.
Baldacci E., Spalla C. a Grein A. The classification of the actinomyces species. Arch. Mikrobiol., **20**, 347, 1954.
Drechsler C. Morphology of the genus Actinomyces. Bot. Gaz., 67, 65, 147, 1919.
Ehrlich J., Gottlieb D., Burkholder P., Anderson L. a. Pridham T. Streptomyces venezuelae n. sp. the source of chloromycetin. J. Bact., **56** (4), **467**, 1948.
Flaig W. u. Kutzner H. Zur Systematik der Gattung Streptomyces. Naturwiss., **41** (12), 287, 1954.
Hesseltine C. A new species of Streptomyces. Mycologia, **46** (1), 16, 1954.
Jensen H. Actinomycetes in Danish soils. Soil Science, **30**, 59, 1930.
Lieske R. Morphologie und Physiologie der Strahlenpilze. Berlin, 1921.
Lindenbein W. Über einige chemisch interessante Aktinomyceten-Stämme und ihre Klassifizierung. Arch. Mikrobiol., **17**, (4), 361, 1952.
Negroni P. Morfologia microscopica y systematica de los actinomycetes. Symposium 6th Intern. Congress Microbiol. Actinomycetales, p. 13. Roma, 1953.
Okami Y. Studies on streptomyces. J. antibiotics (Tokyo), **3**, 93, 582, 1950.
Stapp C. Untersuchungen über Aktinomyceten des Bodens. Ztrbl. Bakt., **II. Abt., 107**, 129, 1953.
Stock C. Azaserine, a new tumour inhibiting substance. Nature, **173**, 71, 1954.
Teillon I. Essai de différenciation biologique des streptomyces antibiotiques. Rev. gen. bot., **60**, 485, 573, 1953.
Waksman S. Bacteria, actinomyces and fungi in the soil. J. Bot., **1**, 101, 1916.
Waksman S. The Actinomycetes. Chronica Botanica, 1950.
Waksman S., Harris D. a. Lechevalier H. Studies on Streptomyces lavendulae. J. Bact., **62** (2), 149, 1951.
Waksman S. a. Lechevalier H. Guide to the classification and identification of the actinomycetes and their antibiotics. Baltimore, 1953.
Waksman., S. Reilly C. a. Harris D. Streptomyces griseus. J. Bact., 56, (3), 259, 1948.

КРИТИКА

В. Л. Елин. **Изменчивость микробов.** Медгиз, М., 1954.

Книг по изменчивости микроорганизмов очень немного, поэтому следует приветствовать выход из печати рецензируемой книги. Она невелика по объему — 211 стр. малого формата, но в ней автор затрагивает ряд важных проблем, связанных с эволюцией микробов, и в основном правильно их освещает. Значительным достоинством книги следует считать ее резко выраженную «биологизацию», стремление автора выйти за пределы медицинской микробиологии и дать анализ фактического материала с общебиологических позиций. На это обстоятельство обращает внимание сам автор в своем предисловии. В книге десять глав, и, повидимому, наиболее целесообразно одновременно с очень кратким анализом содержания каждой главы дать и некоторые критические замечания.

Глава первая — «Происхождение бактерий и вирусов» — начинается ссылками на данные палеомикробиологии; далее излагаются точки зрения А. И. Опарина и Н. Г. Холодного на происхождение жизни, рассматривается «эволюция» пигментов микробов в связи с проблемой становления фотосинтеза у низших растительных организмов, разбирается также вопрос о происхождении патогенных микроорганизмов. Автор совершенно правильно критикует гипотезу о первичности хемоавтотрофов, которую выдвинули ряд выдающихся ученых, и, в соответствии с современными взглядами, считает первичной гетеротрофию, так как ассимилируемые источники азота и углерода могли возникнуть на земле раньше, чем возникла жизнь. В этой главе имеется место, вызывающее недоумение. На стр. 20 мы читаем: «Некоторые микробы могут питаться холестерином, полинафталином, мазутом, нефтью, керосином и т. д.», а дальше следует сразу цитата: «Характерной особенностью всех этих органических веществ является то, что все они перекрещиваются в одной точке, и этой точкой является ацетальдегид». С этим едва ли можно согласиться, так как цитата относится, повидимому, к углеводному обмену, а не к веществам, перечисленным автором выше.

Вторая часть первой главы посвящена происхождению вирусов. Вначале подчеркивается трудность объединения таких вирусов, как табачная мозаика и оспа, рассматривается вопрос о составе вирусов и содержании в них ферментов; затем автор переходит к краткой характеристике растительных и животных вирусов, останавливаясь на форме кристаллов, молекулярном весе, форме частиц вируса и т. д.

Говоря о происхождении вирусов, автор затрагивает вопрос о происхождении вирусов от бактерий. Для биологии вообще, а микробиологии в частности, проблема прогресса и регресса всегда была сложной. Достаточно вспомнить длительные дискуссии, которые велись по поводу филогении несовершенных грибов, происхождения спорогенных дрожжей, филогении некоторых групп бактерий и т. п. Бесспорно, что причислить риккетсии к деградировавшим бактериям из группы протея так же заманчиво, как отнести всю гамму переходов от пситтакоза, с размером частиц в 230—330 $m\mu$, до «микровируса» ящура, с размером частиц в 8—12 $m\mu$, за счет последовательного постепенного упрощения структуры и уменьшения размеров вируса, происходивших в результате регресса. Однако никаких доказательств в пользу правильности этой концепции привести пока нельзя. К сожалению, автор не подчеркнул этого обстоятельства, так как с общебиологической точки зрения вирусы правильнее считать за первичные, а не деградировавшие существа. Это, конечно, не значит, что последняя точка зрения с фактической стороны более обоснована, чем первая. Вопросы филогении не решаются путем «прямого» эксперимента, а в этом вся сложность проблемы. Речь может идти лишь о гипотезах, созвучных прогрессивным идеям в биологии, и в этом отношении широкое распространение идей о «регрессивном характере» эволюции в мире микробов и вирусов едва ли целесообразно. В конце главы автор дает краткое описание наших представлений о бактериофаге. Может быть, стоило более подробно остановиться на работах, в которых дается детальное описание морфологии фага и его размножения в клетке (самостоятельного обмена) за счет сокращения ссылок на теорию о ферментной природе фага и теории, согласно которой фаг представляет собой частицу бактериальной клетки. Автор присоединяется к последней точке зрения (стр. 46), но едва ли фаг представляет собой фильтрующуюся частицу микроба. Повидимому, это вирус, поражающий бактерий, живая природа которого бесспорна.

Глава вторая книги озаглавлена «О ядре и формах размножения бактерий и вирусов». В ней приведено много данных о различных работах по цитологии бактерий, сообщается об исследованиях сторонников существования у бактерий обособленного или диффузного ядра. Автор описывает, как было установлено, что структуры, принятые Робиноу за ядра, в действительности представляют собой артефакты, и присоединяется (стр. 16) к теории, по которой ядерное вещество у бактерий находится в диффузном

состоянии. Этот раздел выиграл бы, если бы в нем имелись новые данные изучения структуры бактерий при помощи электронного микроскопа. В этой главе содержится критика работ, в которых признается половой процесс у бактерий и сообщается о получении половых гибридов. К этой критике можно полностью присоединиться.

Глава третья посвящена формам изменчивости бактерий. Автор останавливается на некоторых специфических особенностях биологии бактерий в связи с их изменчивостью, таких, как скорость размножения, бóльшую (в результате малых размеров), чем у высших растений, влияние внешних факторов, приспособление к условиям паразитической жизни. Затем приводится содержание исследований по изменчивости кишечной палочки, чумного бацилла и других бактерий. Дается определение понятий флюктуации, модификации, длительной модификации и мутации. В представлениях автора длительные модификации служат как бы связующим звеном между модификациями и наследственными изменениями, и это приводит к стиранию отличий между наследственными и ненаследственными изменениями, с чем едва ли можно согласиться. В этой главе приведена критика теории гена и ряда положений формальных генетиков, но не указано, что ряд зарубежных работ с фактической стороны заслуживает внимания. Это особенно касается расшифровки некоторых биосинтезов при помощи вариантов грибов (нейроспора и др.), а также экспериментального получения высокоактивных продуцентов пенициллина и стрептомицина. Автор правильно рассматривает «спонтанную» изменчивость, как изменчивость, возникающую под действием факторов внешней среды. Естественно, что никакой «спонтанной» изменчивости не существует. Однако, разбирая факторы изменчивости, автор обошел работы, посвященные наследственным изменениям микроорганизмов, вызванным сильно действующими факторами. Нет никаких сомнений в том, что при помощи лучистой энергии и ядов могут быть получены разнообразные, в том числе и имеющие практическое значение, формы микроорганизмов. В конце главы автор довольно подробно рассматривает диссоциацию бактерий, совершенно справедливо подчеркивая, что схемой Гедли не исчерпывается изменчивость бактерий и что изменение формы колоний определяется комплексом свойств бактерий. Может быть, стоило подчеркнуть, что так называемая диссоциация только частный случай изменчивости микробов и общие теоретические положения в такой же мере применимы к изменению формы колонии, как и к изменению любых других свойств микроорганизмов. Обособление учения о диссоциации едва ли целесообразно. В общем третья глава содержит много интересных фактов, и в ней выражено стремление автора дать теоретическое обобщение описываемых явлений. Основная концепция автора, приписывающая внешней среде формообразующую роль, вполне обоснована, но в этой же главе следовало дать определение творческой роли отбора. Все сводится к одной изменчивости, а значение отбора в возникновении новых вариантов микробов почти забыто. Между тем именно в мире микробов, размножающихся так быстро, роль отбора исключительно велика.

В главе четвертой изложено современное состояние вопроса о фильтрующихся формах бактерий. В ней приведены главным образом отечественные работы, посвященные изучению фильтрующихся форм. Особенное внимание уделено работам Сукнева, Тимакова, Калины. Автор занимает сдержанную позицию по отношению к теориям, согласно которым образование фильтрующихся форм связано со стадийным развитием бактерий. К этому протесту присоединятся многие микробиологи, особенно после дискуссии, проведенной журналом «Микробиология» по вопросам неклеточных форм жизни микробов. В этой главе доминируют гипотезы, связывающие появление фильтрующихся форм бактерий с их онтогенезом. Следовало бы также указать, что медленно развивающиеся, состоящие из мелких элементов культуры, возможно, представляют собой результат изменчивости. Существенно, что микроорганизмы (дрожжи, плесневые грибы), у которых существование фильтрующихся форм не доказано, дают аналогичные карликовые колонии с пониженным биологическим потенциалом, в которых обнаруживаются мелкие элементы. Вообще следует подчеркнуть, что проблема фильтрующихся форм гораздо сложнее, чем ее обычно считает большинство медицинских микробислогов. Воспроизводимость положительных результатов пока не во власти экспериментатора, а вокруг кормилок Сукнева могут появляться микроколонии и в контрольных (без посева фильтрата) чашках. Что же касается представлений, по которым вирусы и фильтрующиеся формы бактерий отождествляются, то автор вначале отклоняет их, а затем соглашается с такой возможностью. Повидимому, правильнее первое.

Пятая глава, озаглавленная «Факторы изменчивости микробов», начинается с перечисления различных воздействий, которые могут стать причиной изменчивости. Сюда относятся: действие продуктов обмена, влияние питательных сред, солнечная радиация и ряд других, в общей сложности, девять групп факторов. Этот перечень лишен стройности, и правильнее было бы говорить о физических, химических и биологических факторах, вызывающих изменчивость. При дальнейшем изложении рассматриваются только некоторые из этих факторов: изменчивость, вызванная культивированием на синтетических средах, образование вариантов при симбиозе, и особенно обширный материал приведен по изменчивости, происходящей под влиянием макроорганизма. Далее рассматривается изменчивость, вызываемая бактериофагом и антибиотиками. Эта глава особенно интересна для эпидемиолога и медицинского микробиолога. Следует высказать пожелание о том, чтобы в случае переиздания книги при рассмотрении факторов изменчивости были изложены последние достижения в области радиобиологии и подчеркнута возможность получения наследственных изменений у микробов при помощи лучи-

стой энергии и различных ядов. В теоретическом отношении эта глава могла бы быть дополнена соображениями о специфичности действия внешних факторов.

В главе шестой — «О переходе одних типов и видов в другие» — приводится описание многих случаев превращения одного вида или типа бактерий в другой. В связи с обширным материалом, собранным в этой главе, возникают следующие соображения общего порядка:

1. Медицинским микробиологам приходится особенно часто сталкиваться с изменчивостью дизентерийной, кишечной, тифозной, паратифозной и некоторых других бактерий. Совершенно очевидно, что классификация кишечных бактерий далека от совершенства и различия между некоторыми видами очень невелики, тем более это относится к различным типам одного и того же вида.

2. Переходы из одного вида в другой наблюдаются преимущественно именно в этой группе, так как достаточно небольших изменений, чтобы присвоить варианту другое видовое название. Это касается изменчивости салмонелл, шигелл, превращения Bact. typhi в B. typhi flavum и т. д.

3. Предел изменчивости любого микроорганизма лимитируется его историческим прошлым, его филогенетическими особенностями, и, следовательно, описание внезапного превращения представителя одного семейства или рода в представителя другого рода, а тем более семейства, противоречит всему ходу эволюции. Именно поэтому более чем сомнительно превращение спороносных форм в кокковые или переход четко «очерченного» вида, например Bac. mycoides, в неспороносную мелкую палочку. Общие микробиологи в процессе своей работы часто сталкиваются с микроорганизмами, экотипы которых отличаются друг от друга больше, чем некоторые отдельные виды или типы патогенных бактерий.

4. В данной главе хотелось бы видеть критику тех экстравагантных трансформаций, которых немало описано в литературе и которые никакого отношения к изменчивости микробов не имеют.

В главе седьмой, посвященной изменчивости вирусов, приводятся данные об ослаблении вирулентности вирусов в результате пассажей через организм животного. Это касается вирусов бешенства, эпителиомы кур, гриппа, холеры свиней и других. Рассматривается также адаптация вируса к новой среде, в частности к другому организму, которая сопровождается изменением его антигенной структуры. Говоря о влиянии различных факторов, в том числе лучистой энергии, на вирусы, автор склоняется к мысли, что они действуют не непосредственно на вирус, а на клетку хозяина, которая, в свою очередь, определяет состояние вируса.

В этой главе вполне обоснованно критикуется точка зрения Барнета на механизм эволюции вирусов, по которой все разнообразие изменчивости вирусов сводится к прерывистому мутированию. Многочисленные примеры изменчивости вирусов, приведенные в этой главе, подтверждают живую природу вирусов.

Изменчивости дрожжей и грибков посвящена небольшая восьмая глава. В основном в ней содержится описание результатов исследования Линдегрена, Винге и Лаустзена, Косикова, исследований Логиновой по адаптации дрожжей и получению активных рас у Penicillium chrysogenum, применяемых в пенициллиновой промышленности. Общего микробиолога содержание этой главы удовлетворить не может, так как она занимает только около шести страниц. Однако она несомненно полезна, так как познакомит медицинских микробиологов с некоторыми современными исследованиями в области изменчивости непатогенных микроорганизмов, а также с работами по гибридизации дрожжей.

Глава десятая озаглавлена «Эколого-географический фактор изменчивости микроорганизмов». В ней приведены данные по эколого-географической изменчивости почвенных микроорганизмов, в том числе Azotobacter'a, Bac. mycoides, B. proteus и некоторых почвенных грибов.

Следует только приветствовать существование такой главы в книге. Можно высказать только два пожелания. Во-первых, следует подчеркнуть ведущее значение экологических факторов по сравнению с географическими моментами. Достаточно сказать, что в одной и той же географической точке могут быть выделены расы одного и того же вида микроба с температурным оптимумом от 25 до 60°, в то время как северные и южные расы этого микроба по своему температурному оптимуму роста будут отличаться только на несколько градусов. Во-вторых, следовало подчеркнуть, что явление паразитизма представляет собой раздел экологии (приспособление к биотическим факторами среды). В главе же отсутствуют данные по экологии патогенных микробов.

Десятая, последняя глава — «Вид у бактерий» — содержит определение вида, разновидности, типа и штамма, которые были даны ботаниками и микробиологами в разное время. Ознакомление широких кругов читателей с различными дефинициями вида принесет большую пользу. В этой главе автор дает собственное определение вида, несколько более пространное, чем это давалось раньше, и включающее морфологические, биохимические, серологические и экологические особенности вида.

Написана книга хорошим литературным языком, поэтому особенно досадно, что количество опечаток в ней превышает все допустимые нормы. Повидимому, в этом виновато издательство (Медгиз), не следящее за работой корректоров. Чтобы не быть голословным, приведу только небольшое число таких опечаток: стр. 16 — напечатано

«микобактерий», надо «миксобактерий», стр. 18 — «бактериохлорофилия», надо «бактериохлорофилл», стр. 20 — «феноптрен», следует «фенантрен»; стр. 198 — «серо-зеленых почв Средней Азии» — повидимому, речь идет о «сероземах»; стр. 200 — «подзолье», надо «подзолы», стр. 196 — «продуктов», надо «продуцентов», и т. д. Латинские названия микроорганизмов даны иногда в неправильной транскрипции: стр. 189 — Sacch. bianus надо Sacch. Bayanus; стр. 171 — B. faecalis alcoligenes следует B. f. alcaligenes. Особенно досадно, что фамилии и инициалы советских и иностранных авторов изменены. Это касается Н. Н. Сушкиной (стр. 197), Л. Г. Логиновой (стр. 192), Винге и Лаустзен (стр. 189) и т. д. Иногда фамилия одного и того же исследователя в разных местах книги имеет различную транскрипцию. Мы неоднократно обсуждаем вопрос о количестве опечаток в книгах, и в данном случае читатель вправе предъявить Медгизу свои претензии.

Монография В. Л. Елина несомненно принесет пользу, так как в ней сжато изложены наиболее важные разделы учения об изменчивости микробов. Ее краткость — большое достоинство, и она с одинаковым интересом будет прочитана медицинским и общим микробиологом, вирусологом, генетиком и эпидемиологом. Автор стремился установить тесный контакт между медициной и биологией, и в ряде глав он осуществил это удачно

А. А. Имшенецкий

ХРОНИКА

К ЮБИЛЕЮ АКАДЕМИКА ВЛАДИМИРА АЛЕКСАНДРОВИЧА ЭНГЕЛЬГАРДТА

В декабре 1954 г. наша научная общественность отметила славную юбилейную дату: шестидесятилетие со дня рождения и тридцатипятилетие научной, общественной и педагогической деятельности выдающего биохимика академика Владимира Александровича Энгельгардта. Ученик и сотрудник академика А. Н. Баха, Владимир Александрович в 1929 г. был избран профессором Казанского университета, а в 1933 г. профессором общей биохимии Ленинградского университета. С этого же года он работает в Академии наук СССР, сначала в Лаборатории биохимии и физиологии животных, а затем во вновь организованном Институте биохимии АН СССР.

Владимир Александрович является крупнейшим представителем функциональной биохимии. Он хорошо известен и близок микробиологам по своим основополагающим работам в области фосфорного обмена, в особенности по ферментативным превращениям нуклеотидных соединений, по окислительному фосфорилированию, по механизму пастеровского эффекта, по химизму и энзимологии процессов дыхания и брожения и, наконец, по общей и промышленной витаминологии.

Ранние работы Владимира Александровича были посвящены биохимии иммунитета. Эти работы привели к обнаружению антигенных свойств у веществ, которые ранее считались лишенными этих свойств, и способствовали развитию новых представлений о природе реакции антигена и антитела.

Владимиру Александровичу принадлежит заслуга обнаружения явления аэробного ресинтеза аденозинтрифосфорной кислоты, сопряженного с дыханием,— важнейшего биологического процесса, лежащего в основе использования клетками и организмами энергии оксидоредукции дыхания. Это открытие явилось одним из отправных этапов для развития современных представлений о способах аккумуляции в клетках энергии, освобождающейся в результате дыхания, и о внутриклеточном саморегулировании энергетических процессов.

В свое время считалось, что окислению сахаров должен предшествовать их анаэробный распад. На основании ряда экспериментальных исследований и общетеоретических соображений Владимир Александрович сформулировал положение, что окисление сахаров может идти через фосфоглюконовую кислоту, фосфопентозу и т. д. Этот путь окисления, присущий как микроорганизмам, так и тканям и клеткам высших организмов, был назван «анатомическим» путем окисления.

Исследования по пастеровскому эффекту, проведенные Владимиром Александровичем с большим экспериментальным мастерством, значительно углубили наши знания о природе взаимозависимости процессов дыхания и брожения. Была сделана попытка установить механизм переключения аэробного использования сахаров на анаэробное. Этот механизм рисуется так. Если гексоза направляется по пути аэробного распада, то происходит окисление ее альдегидной группы и образование фосфоглюконовой кислоты. Если же молекула гексозы распадается в процессе брожения, то подвергается вторичному фосфорилированию с образованием гексозодифосфата. Далее было выдвинуто весьма интересное положение о том, что аэробный или анаэробный путь распада углеводов определяется на стадии гексозомонофосфата; торможение фосфорилирования этого соединения и переводит процесс на аэробный путь.

В экспериментальных энзимологических исследованиях было показано, что под влиянием кислорода и других окислителей происходит угнетение фермента, катализирующего фосфорилирование гексозомонофосфата — фосфогексокиназы.

Мировую известность получили исключительные по научному значению исследования В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой о закономерности превращения при мышечном сокращении химической энергии в механическую. Сократительный белок мышцы — миозин оказался обладающим ферментативным свойством, способностью катализировать распад аденозинтрифосфата и тем самым освобождать энергию, необходимую для мышечного сокращения. С другой стороны, механические свойства самого миозина изменяются под влиянием аденозинтрифосфата. Эта весьма знаменательная диалектическая взаимозависимость позволила вскрыть связь между структурой сократимой ткани, ее функцией и химизмом. Эти замечательные исследования были удостоены Сталинской премии первой степени.

Эти и другие исследования в этом направлении, так же как и факты, накопленные в науке, позволили Владимиру Александровичу сформулировать представление о том, что значительная часть белков клетки должна обладать ферментативной активностью. Дальнейшие исследования в этой области подтвердили в значительной мере такое представление.

Владимир Александрович постоянно сочетает глубокие теоретические исследования с интересами и нуждами промышленности и практического здравоохранения. В сфере его внимания всегда были важные вопросы бродильной, медицинской и витаминной промышленности.

Владимир Александрович достойно представлял нашу науку на многих международных конгрессах. Он ведет большую общественную и педагогическую работу, редактирует журнал «Биохимия».

7 декабря 1954 г. в Доме ученых АН СССР состоялось торжественное заседание, посвященное чествованию Владимира Александровича. С обстоятельным докладом о научной, педагогической и общественной деятельности юбиляра выступил чл.-корр. АН СССР С. Е. Северин.

От имени Президиума АН СССР, ряда министерств СССР: высшего образования, здравоохранения, промышленности продовольственных товаров, мясной и молочной промышленности и др., Московского государственного университета, многочисленных учреждений и организаций, а также учеников были зачитаны приветственные адреса, в которых в сердечных и теплых словах были высказаны глубокое уважение, любовь и чувство благодарности, которые питают научная общественность, работники здравоохранения и ряда отраслей промышленности к Владимиру Александровичу как к крупному ученому, талантливому педагогу и общественному деятелю.

От имени Института микробиологии АН СССР юбиляра приветствовал чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий, который отметил значение работ Владимира Александровича для микробиологической науки и от имени микробиологов, пожелал юбиляру многих лет плодотворной работы на благо нашей Родины и науки.

М. Н. Мейсель и Я. И. Раутенштейн

К 60-ЛЕТНЕМУ ЮБИЛЕЮ Л. А. ЗИЛЬБЕРА

Научная общественность недавно отмечала 60-летие действительного члена Академии медицинских наук СССР, лауреата Сталинской премии, профессора Льва Александровича Зильбера.

Научный путь Льва Александровича является ярким примером тесного единства различных ветвей нашей науки — микробиологии, иммунологии, вирусологии и теоретической онкологии.

Окончив два факультета — физико-математический по естественному отделению и медицинский, Лев Александрович работает санитарным врачом в г. Звенигороде. В 1920 г. он уходит добровольцем в Красную Армию и работает в действующих частях почти до окончания гражданской войны. С 1921 г. Лев Александрович работает в Институте микробиологии НКЗ по одному из наиболее актуальных вопросов биологии — по проблеме изменчивости микроорганизмов. Исследования Льва Александровича по этой проблеме показали возможность наследования бактериями приобретенных свойств.

Дальнейшим этапом научного пути Льва Александровича является широкое изучение вопросов иммунитета.

Наиболее существенными из этого цикла работ явились его работы по термостабильности антигенов, антител и комплемента. В исследованиях, посвященных этой проблеме, Льву Александровичу и его сотрудникам удалось показать возможность предохранения от тепловой денатурации при помощи сахарозы не только компонентов иммунологических реакций, но и бактерий, что сопровождалось заметным повышением их температурного порога смерти. Эти работы, подтвержденные как у нас, так и за рубежом, имели не только теоретическое, но и практическое значение. На их основе был создан метод приготовления сахарозных вакцин. Противочумные вакцины, приготовленные по этому методу, в течение многих лет применялись у нас в стране.

В 1929 г. Лев Александрович был избран на кафедру микробиологии в Бакинский мединститут и был назначен директором Азербайджанского института микробиологии. Под его руководством были успешно проведены мероприятия по ликвидации вспышки инфекционных заболеваний в Азербайджане.

Завершением иммунологических исследований Льва Александровича явилось изданное в 1937 г. его монографическое руководство по иммунитету. Переизданное в 1946 г., оно стало настольной книгой не только для микробиологов, но и для врачей смежных специальностей.

В 1935 г. по инициативе Льва Александровича у нас в стране создается первое самостоятельное вирусологическое учреждение — Центральная вирусная лаборатория, позже слитая с отделом вирусологии ИЭМ и составившая базу, на которой в послевоенные годы был создан Институт вирусологии АМН СССР.

В 1935 г. Лев Александрович организует существующий до сих пор отдел вирусологии в Институте микробиологии Академии наук СССР. В этом институте под руководством Льва Александровича были широко развернуты работы по изучению носительства вирусов микробами. Были выяснены основные биологические закономерности этого процесса и установлено, что в результате симбиоза вирусов и микробов имеет место изменение как свойств вируса, так и свойств микроба-носителя. Широко изучался Львом

Александровичем в этом институте и вопрос о природе вирусов. Полученные при изучении этого вопроса данные уже в те годы сделали Льва Александровича убежденным сторонником живой природы вирусов. В неоднократных дискуссиях по этой острой проблеме Лев Александрович последовательно развивал идею о живой природе вирусов, относя к ним и вирусы бактерий — бактериофаги. Нельзя не отметить, что эта точка зрения разделяется сейчас большинством исследователей.

Лев Александрович являлся одним из главных инициаторов созыва Первого Всесоюзного совещания по проблеме ультрамикробов и фильтрующихся вирусов, проведенного Академией наук СССР в декабре 1935 г. Это совещание, привлекшее большое внимание научной общественности, сыграло значительную роль в развертывании работ по изучению проблемы вирусов.

Большое значение имели исследования Льва Александровича и сотрудников, посвященные изучению вируса гриппа. Ими впервые был дан метод выделения вируса гриппа пассажами на белых мышах и широко изучена адаптивная изменчивость этого вируса. Много труда потратил Лев Александрович на изучение закономерностей иммунитета к вирусам. При изучении этого вопроса впервые была установлена роль выделительного фактора в противовирусном иммунитете.

В 1937 г. Л. А. Зильбер возглавил экспедицию, направленную на Дальний Восток для изучения этиологии дальневосточного энцефалита. Эта экспедиция имела исключительный успех.

Одним из важнейших достижений Льва Александровича в области вирусологии является открытие им возбудителя этого заболевания.

Исследованиями Л. А. Зильбера и ряда других ученых нашей страны (акад. Е. Н. Павловского и других) была полностью установлена эпидемиология дальневосточного энцефалита, детально описана клиника, создана теория переноса заболевания клещами и само заболевание выделено в самостоятельную нозологическую единицу.

В последующие годы Лев Александрович установил вместе с А. К. Шубладзе и М. С. Захаровой наличие в СССР шотландского энцефалита.

В 1946 г. вышла монография Л. А. Зильбера, посвященная эпидемическим энцефалитам, в которой были синтезированы исследования его лаборатории по этой проблеме. Эта монография была удостоена высшей награды нашей страны для ученого — Сталинской премии.

К этому времени лаборатория Льва Александровича включилась в изучение еще более трудной, но вместе с тем наиболее важной проблемы — природы рака. Работы Льва Александровича и сотрудников по этой проблеме шли главным образом по двум основным направлениям — по изучению этиологии злокачественных опухолей и их иммунологии. Лев Александрович — убежденный сторонник вирусной теории происхождения опухолей. Для обоснования этой теории им представлены обширные экспериментальные материалы. Установлено наличие в опухолях специфических антигенов, разработана оригинальная методика, позволяющая их обнаружить и, наконец, разработан метод искусственной иммунизации против экспериментального рака. Эти работы Льва Александровича и сотрудников по иммунологии опухолей выдвинули советскую теоретическую онкологию на ведущее место.

Успех Льва Александровича в изучении проблемы рака в значительной мере обусловлен тем, что эта проблема изучается им с широких биологических позиций. Это является характерным и для многих других исследований Льва Александровича.

Из лаборатории Льва Александровича вышло около 20 диссертаций, и многие сотни врачей прошли через руководимые им курсы усовершенствования врачей в ЦИУ.

Чрезвычайно ценна работа Льва Александровича по собиранию, изданию, комментированию и популяризации иммунологических исследований И. И. Мечникова. Л. А. Зильберу принадлежит заслуга установления приоритета И. И. Мечникова в вирусной теории происхождения рака, приоритета Г. П. Сахарова в открытии сывороточной анафилаксии, приоритета И. Г. Савченко в открытии опсонинов.

Л. А. Зильбер принимает большое участие и в общественной жизни. Он член правления Всесоюзного общества микробиологов, эпидемиологов и инфекционистов, член Совета по проблеме рака при президиуме АМН СССР, член ученых советов ряда институтов и пр.

Недавно состоялось чествование Л. А. Зильбера по поводу его 60-летия и 35-летия научно-исследовательской работы. Это чествование проходило в исключительно теплой, дружеской обстановке. Научная и общественная деятельность Л. А. Зильбера была высоко оценена в приветствиях от Министерства здравоохранения СССР, от Президиума Академии медицинских наук СССР, от ЦК и Московского комитета профсоюза медработников, от Военно-санитарного управления Советской Армии, от Всесоюзного и Московского обществ микробиологов, от большинства микробиологических институтов нашей страны и многих общественных и партийных организаций и учреждений. Представители широких кругов медицинской общественности в своих выступлениях говорили о большом значении работ Л. А. Зильбера для советской науки и здравоохранения, создавших ему широкую популярность в нашей стране и за рубежом.

Н. В. Нарциссов и А. М. Гардатьян.

Л. И. КУРСАНОВ

(1877—1954)

11 декабря 1954 г. скончался один из старейших и крупнейших советских ботаников, заслуженный деятель науки Лев Иванович Курсанов.

Со студенческих лет вся жизнь и работа Льва Ивановича Курсанова была тесно и неразрывно связана с Московским университетом. По окончании университета в 1900 г. он был оставлен при кафедре ботаники своим учителем И. Н. Горожанкиным и затем последовательно прошел все ступени университетской служебной лестницы — лаборанта, ассистента, приват-доцента, профессора (с 1918 г.).

Лев Иванович был пионером и наиболее крупным представителем у нас морфолого-цитологического направления в изучении низших растений. Объектами исследований Льва Ивановича были отчасти водоросли, но главным образом грибы. Он подробно изучил оплодотворение и прорастание зигот у водоросли зигнемы, описал интересное явление волнообразного распространения митозов в нитях сифоновой водоросли вошерии. Главным же объектом исследований Льва Ивановича в дореволюционный период были ржавчинные грибы. В ряде исследований, собранных в большой магистерской диссертации «Морфологические и цитологические исследования в группе Uredineae» (1915 г.), Лев Иванович разбирает наиболее неясные или спорные в то время вопросы их цикла развития: место и способ возникновения двуядерности в клетках, происхождение так называемых неполных форм и др.

Еще в дореволюционное время Лев Иванович был уже вполне сложившимся ученым, имевшим учеников. Поэтому, когда в Московском университете в 1918 г. была организована кафедра низших растений, он, естественно, стал во главе ее и руководил ею до самой смерти. Перед новой кафедрой возник вопрос о направлении ее работ и профиле подготовляемых специалистов. Морфолого-цитологическое изучение онтогенеза, очень важное и интересное в теоретическом отношении, не могло удовлетворять запросы практической жизни, все более и более предъявлявшиеся к университету. Лев Иванович понял это и, чутко улавливая вопросы, ставившиеся жизнью, направлял кафедру на разработку их. Однако старое направление не было оставлено, и в ряде работ, вышедших с кафедры, а также в лекционных курсах, читавшихся Львом Ивановичем, и в учебниках по низшим растениям, написанных им, морфологическое направление стоит на первом месте.

Сближение с практикой естественно началось прежде всего с фитопатологии, и эта связь непрерывно продолжалась и крепла. Лев Иванович в течение ряда лет читал курс общей фитопатологии. Исследовательские работы, которыми он руководил, выдвигали и разрабатывали новую проблему — физиологию и биохимию паразитизма.

влияние паразита на изменение строения и, главным образом, жизненных функций его хозяина. В этих работах был обнаружен ряд интересных закономерностей.

В это же время возникла и другая связь с практикой: изучение грибов, разрушающих здания, шпалы на железных дорогах, деревянные части самолетов и т. п. Львом Ивановичем и его сотрудниками энергично разрабатывались эти вопросы; Львом Ивановичем были организованы специальные микологические лаборатории в некоторых отраслевых институтах и на заводах, где начали работать его ученики.

Несколько позднее Лев Иванович, как миколог, принял участие в работах, связанных со здравоохранением. Из них больше всего внимания и сил он отдал проблеме антибиотиков, в разработку которой и в подготовку соответствующих кадров Лев Иванович включился с самого ее возникновения. Часть работ велась на кафедре в МГУ, бо́льшая же часть в специальных лабораториях и в Институте антибиотиков, где Лев Иванович был в числе организаторов и постоянных консультантов. Для определения грибов из родов Penicillium и Aspergillus, которые вначале привлекли к себе наибольшее внимание, как продуценты антибиотиков, Львом Ивановичем был написан специальный определитель.

Почвенные грибы и их роль в разложении целлюлозы, микоризы древесных пород — темы, тоже разрабатывавшиеся учениками Льва Ивановича под его непосредственным руководством и свидетельствующие о широте диапазона его интересов в микологии.

В области микробиологии Лев Иванович сам непосредственно не работал, но благодаря своей широкой эрудиции он был в курсе и этой дисциплины. Его знания и авторитет в этой области высоко ценились, о чем свидетельствует тот факт, что ряд наших известных микробиологов имели Льва Ивановича официальным оппонентом при защите своих докторских диссертаций.

Изучение влияния паразитных грибов на их хозяев, работы с почвенными грибами, с грибами продуцентами антибиотиков требовали физиологических и биохимических методов исследования, и Лев Иванович в последние два десятилетия уделял все больше и больше внимания «физиологизации микологии», как он выражался.

Большие заслуги имеет Лев Иванович перед нашей высшей школой в деле создания оригинальных учебников по низшим растениям, по микологии, по общему курсу ботаники. На этих учебниках, написанных Львом Ивановичем лично или в сотрудничестве с другими питомцами Московского университета, выдержавших по несколько изданий, переведенных на языки союзных и братских республик, воспитывались многие поколения советских биологов.

В лице Льва Ивановича сошел в могилу один из наиболее видных советских криптогамистов, воспитавший многие поколения советских ученых, создававший кадры специалистов по «низшим растениям».

Исключительная ясность ума, трезвость мысли, меткость суждений были присущи Льву Ивановичу до последних дней его жизни. Большая требовательность к себе и своим ученикам, высокая принципиальность, стойкость научных убеждений — таков моральный облик Льва Ивановича как ученого. К его помощи и совету обращались не только его ученики, но и множество лиц из разных научных учреждений Москвы и других городов, и он никогда никому не отказывал в ней. Светлая память о Льве Ивановиче Курсанове останется в сердцах всех знавших его.

Н. А. Комарницкий

БИБЛИОГРАФИЯ

ИНОСТРАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

(1952—1953 гг.)

(Продолжение, см. т. XXIII, вып. 6, 1954)

б) Биохимия и физиология

Raistrick H., Stickings C. E. and Thomas. Studies in the biochemistry of microorganisms. 90. Alternariol and alternariol monomethyl ether metabolic products of Alternaria tenuis Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 3, p. 421—433.

Ramakrishnan C. V. and Banerjee B. N. Studies on mold lipase. Comparative study of lipases obtained from molds grown on Sesamum indicum. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 37, No. 1, p. 131—135.

Ränby B. G. Physico-chemical investigation on bacterial cellulose. Arkiv Kemi, 1952, vol. 4, No. 3, p. 249—255.

Ravin A. W. Heritable and non-heritable loss of ability by Aerobacter aerogenes to grow adaptively on single carbon sources. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 3—4, p. 211—232.

Reed L. J. and DeBusk B. G. Chemical nature of an α-lipoic acid conjugate required for oxidation of pyruvate and α-ketoglutarate by an Escherichia coli mutant. J. biol. Chem., 1952, vol. 199, No 2, p. 881—888.

Reed L. J. and DeBusk B. G. A conjugate of α-lipoic acid required for oxidation of pyruvate and α-ketoglutarate by an Escherichia coli mutant. J. biol. Chem., 1952, vol. 199, No. 2, p. 873—880.

Reese E. T. and Levison H. S. A comparative study of the breakdown of cellulose by microorganisms. Physiol. Plant., 1952, vol. 5, fasc. 3, p. 345—366.

Reese E. T., Gilligan W. and Norkrans B. Effect of cellobiose on the enzymatic hydrolysis of cellulose and its derivatives. Physiol. Plant., 1952, vol. 5, fasc. 3, p. 379—390

Reese E. T. and Gilligan W. Separation of components of cellulolytic systems by paper chromatography. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 45, No. 1, 74—82.

Reinbold G. W., Hussong R. V. and Nelson W. The nutrition of Pseudomonas putrefaciens. I. Nitrogen requirements. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 4, p. 414—421.

Reinbold G. W., Hussong R. V. and Nelson W. O. The nutrition of Pseudomonas putrefaciens. II. Utilization of non-nitrogenous carbon compounds. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 6, p. 645—651.

Repaske and Wilson P. W. Nitrous oxide inhibition of nitrogen fixation by Azotobacter. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 12, p. 3101—3103.

Repaske R. and Wilson P. W. Oxidation of intermediates of the tricarboxylic acid cycle by extracts of Azotobacter agile. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 1953, vol. 39, No. 4, p. 225—231.

Reusser P. Über den Enfluss von Patulin ouf den Gasweshsel der Hefezellen. Phytopath. Ztschr., 1952, Bd. 19, H. 2, S. 221—265.

Richou R., Kourilsky R. et Richou R. Recherches sur les diastases microbiennes. Sur la vitesse de l'action gélatinolytique des filtrats de culture de Proteus et de Pseudomonas aeruginosa à différentes températures. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 9—10, p. 794—796.

Richou R., Kourilsky R. et Arquié E. Sur la présence de ferments fibrionolytiques dans les «complexes antagonistes» à base de streptomycine et dans les filtrats de culture de Pseudomonas aeruginosa. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 1/2, p. 46—47.

Richou R., Richou R., Gerbeaux C., Jacquet J. et Julienne P. Recherches sur les diastases microbiennes. Rapports entre le pouvoir gélatinolytique et les autres propriétés des filtrats de culture de staphylocoques isolés de la mamelle des Bovidés. C. R. Soc. Biol., 1952, t. 146, No. 19/20, p. 1493—1494.

Rippel-Baldes A. Die Energieausnützung durch Mikroorganismen in quantitativer Hinsicht. Arch. Mikrobiol., 1952, Bd. 17, H. 2, S. 166—188.

Roberts D. et Tabone J. Synthèse par B. megatherium d'une combinaison labile du glucose et de l'acide anthranilique. Bull. Soc. Chim. Biol., Paris, 1952, t. 34, No. 11, p. 1099—1101.
Roberts E. Further studies of inhibition of bacterial glutamic decarboxylase. J. biol. Chem., 1953, vol. 202, No. 1, p. 359—368.
Roberts E., Ayengar P. and Posner I. Transamination of γ-aminobutyric acid and β-alanine in microorganisms. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part I, p. 259.
Roberts E., Ayengar P. and Posner I. Transamination of γ-aminobutyric acid and β-alanine in microorganisms. J. biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 1, p. 195—204.
Roberts E. and Hunter P. F. Inhibition of utilization of aspartic acid for growth of Leuconostoc mesenteroides P-60. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1953, vol. 83, No. 4, p. 720—721.
Roberts E. and Ramasarma G. B. Amino acids of turnip yellow mosaic virus. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 80, No. 1, p. 101—104.
Roberts R. B. and Abelson P. H. The role of the tricarboxylic acid cycle in amino acid synthesis in Escherichia coli. Science, 1953, vol. 117, No. 3044, p. 471.
Roberts R. B., Cowie D. B., Britten R., Bolton E. and Abelson P. H. The role of the tricarboxylic acid cycle in amino acid synthesis in Escherichia coli. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 1953, vol. 39, No. 10, p. 1013—1019.
Ribichon-Szulmajster H. et Khouvine Y. Ribonucléoprotéides de la levure de boulangerie. III. Extration des ribonucléoprotéides par les ultra-sons. Analyse des protéines. Bull. Soc. Chim. Biol., 1953, t. 35, No. 9, p. 945—952.
Robinson J. and Katznelson H. Aspartate-glutamate transaminase in a red halophilic bacterium. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4380, p. 672—673.
Roche J. et Lacombe G. Sur l'argininedésiminase et sur la formation enzymatique de citrulline par les levures. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 9, No. 6, p. 687—692.
Rodwell A. W. The occurrence and distribution of amino-acid decarboxylases within the genus Lactobacillus. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 2, p. 224—232.
Rodwell A. W. The histidine decarboxylase of a species of Lactobacillus: apparent dispensability of pyridoxal phosphate as coenzyme. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 2, p. 233—237.
Rodwell A. W. Factors affecting the activation of the ornithine apodecarboxylase of a strain of Lactobacillus. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 2, p. 238—247.
Rodwell A. W. and Rodwell E. S. Pathway for glucose oxidation in Asterococcus mycoides. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4371, p. 254—255.
Roelofsen P. A. Polygalacturonase-activity in yeast Neurospora and tomato extract. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No 3, p. 410—413.
Roelofsen P. A. Yeast mannan, a cell wall constituent of baker's yeast. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 3, p. 477—478.
Rooers D., King T. E. and Cheldelin V. H. Growth stimulation of Factobacillus gayoni by N-D-glucosylglycine. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1953, vol. 82, No. 1, p. 140—144.
Rolinson G. N. Respiration of Penicillium chrysogenum in penicillin fermentations. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 3—4, p. 336—343.
Rolinson G. N. and Lumb M. The effect of aeration on the utilization of respiratory substrates by Penicillium chrysogenum in submerged culture. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 2, p. 265—272.
Rolinson G. N. and Lumb M. The oxidation of lard oil by Penicillium chrysogenum. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 3, p. 385—393.
Rose C. S., Feldbaumi E. P., Norris and György P. Toxicity of autoclaved cystine for Lactobacillus bifidus. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 81, No. 3, p. 709—712.
Rose C. S., Luchi R. J., Norris R. F. and György P. Mono- and disaccharides in growth of Lactobacillus bifidus and its mutants. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 81, No. 3, p. 712—715.
Roseman S., Ludowieg J., Moses F. E. and Dorfman A. Biosynthesis of hyaluronic acid by group A streptococcus. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. I, part I, p. 260.
Roseman S., Moses F. E., Ludowieg J. and Dorfman A. The biosynthesis of hyaluronic acid by group A streptococcus. I. Utilization of I-C^{14}-glucose. J. biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 1, p. 213—226.
Roth J. S. and Milstein S. W. Ribonuclease I. A new assay method with P^{32} — labeled yeast ribonucleir acid. J. biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 2, p. 489—498.
Rothstein A. and Berke H. Effects of 2,4-dinitrophenol concentrations on rates of respiration and fermentation of yeast. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 81, No. 2, p. 559—563.
Rothstein A. and Demis C. The relationship of the cell surface to metabolism. The [illegible] by extracellular potassium. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 44, No. 1, p. 18—29.
Rothhardt K. H. J. Versuch zu einer Erklärung der Photoreaktivierung von Bakterio[illegible]. Naturwiss., 1953, Jg. 40, H. 5, S. 162.
Rouyer M. A. L'utilisation des monosaccharides des polysaccharides et des substances

ligneuses par une souche de micro-organisme cellulolytique. Exper., 1953, vol. 9, fasc. 12, p. 460—461.
Rowley D. Inhibition of E. coli strains by aminoacids. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4341, p. 80—81.
Rowley D. Interrelationships between amino-acids in the growth of coliform organisms. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 1, p. 37—43.
Rudman D. and Meister A. Transamination in Escherichia coli. J. biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 2, p. 591—604.
Rutter W. J. and Hansen R. G. Lactose metabolism. I. Carbohydrate metabolism of Lactobacillus bulgaricus strain Gere A. J. Biol. Chem., 1953, vol. 202, No. 1, p. 311—322.
Rutter W. J. and Hansen R. G. Lactose metabolism. II. The conversion of galactose to glucose derivatives in Lactobacillus bulgaricus strain Gere A. J. biol. Chem., 1953, vol. 202, No. 1, p. 323—330.
Sadasivan V. Biochemical studies on Penicillium chrysogenum Q — 176. II. Further investigations on phosphatase activity. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 37, No. 1, p. 172—185.
Sakamoto Y., Uchida M. and Katashi I. The bacterial decomposition of indole. I. Studies on its metabolic pathway by successive adaptation. Med. J. Osaka Univ., 1953, vol. 3, No. 4, p. 477—486.
Samuels P. J. The assimilation of amino acids by bacteria. 17. Synthesis of glutathione by extracts of Escherichia coli. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 3, p. 441—443.
Santer M. and Ajl S. J. Steroid metabolism by a species of Pseudomonas. II. Direct ecidence for the breakdown of testosterone. J. biol. Chem., 1952, vol. 199, No. 1, p. 85—89.
Santer M., Ajl S. J. and Turner R. A. Steroid metabolism by a species of Pseudomonas. I. J. biol. Chem., 1952, vol. 198, No. 1, p. 397—404.
Sarasin A. Untersuchungen uber die Lactoflavinbildung durch Aspergillus niger von Tieghem. Ber. d. Schweiz. Bot. Ges., 1953, Bd. 63, S 287—316.
Sartory R., Meyer J., Touillier J., et Gehrig Th. Etude chromatographique des trichophytines. Leur composition en acides aminés. Bull. Assoc. Diplomes Microbiol. Fac. Pharm. Nancy, 1952, No. 48, p. 18—22.
Saunders A. P., Otto R. H. and Sylvester J. C. The production of vitamin B_{12} by various strains of Actinomycetes. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 5, p. 725—729.
Sauthoff W. Über Stoffwechselprodukte bei Botrytis cinerea Pers. Phytopath. Ztschr., 1952, Bd. 19, H. 4, S. 483—484.
Schaeffer P. Recherches sur le métabolisme bactérien des cytochromes et des porphyrines. I. Disparition partielle des cytochromes par culture anaérobie chez certaines bactéries aérobies facultatives. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 9, No. 3, p. 261—270.
Schaeffer P. Recherches sur le métabolisme bactérien des cytochromes et des porphyrines. II. Excrétion des porphyrines par culture anaérobie chez certaines bactéries aérobies facultatives. Biochim. Biophys, Acta, 1952, vol. 9, No. 4, p. 362—368.
Schaeffer P. Recherches sur le métabolisme bactérien des cytochromes et des porphyrines. IV. Effets de la carence en streptomycine sur des mutants bactériens streptomycino-exigeants. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 9, No. 5, p. 563—571.
Schatz A. Uptake of carbon dioxide, hydrogen and oxygen by Hydrogenomonas facilis. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 3-4, p. 329—335.
Schiesser A. Degradazione microbica della digitonina. II. Attivita idrolitica ed ossidativa di Flavobacterium sp. Ricerca Sci., 1953, vol. 23, No. 4, p. 638—644.
Schlegel H. G. Physiologische Untersuchungen an wasserstoffoxydierenden Bakterien. Arch. Mikrobiol., 1953, Bd. 18, H. 4, S. 362—390.
Schlenk F. and Smith R. L. The mechanism of adenine thiomethylriboside formation. J. biol. Chem., 1953, vol. 204, No. 1, p. 27—34.
Schmidt G. C., Logan M. A. and Tytell A. A. The degradation of arginine by Clostridium perfringens (BP6 K). J. biol. Chem., 1952, vol. 198, No. 2, p. 771—784.
Schneyer L. H. The effects of potassium on bacterial luminescence intensity with reference to the temperature and pressure conditions. J. cell. comp. Physiol., 1953, vol. 42, No. 2, p. 285—294.
Schramm G. und Braunitzer G. Prolin als Endgruppe des Tabakmosaikvirus. Ztschr. Naturforsch., 1953, Bd. 8b, H. 2, S. 61—65.
Schramm G. und Kerékjarto B. Zur Konstitution der Ribosenucleinsäure aus Hefe und Tabakmosaikvirus. Ztschr. Naturforsch., 1952, Bd. 7b, H. 11, S. 589—594.
Schramm G., Westphal O. und Lüderitz O. Über bakterielle Reizstoffe. III. Mitt. Physikalisch-chemisches Verhalten eines hochgereinigten Coli-Pyrogens. Ztschr. Naturforsch., 1952, Bd. 7b, H. 11, S. 594—598.
Schreiner H. und Eichler F. Vergleichende Untersuchungen über die Wachstumshemmung von Mikroorganismen durch inaktives und radioaktives Silber. Biochem. Ztschr., 1953, Bd. 324, H. 4, S. 301—307.
Scott D. and Hedrick L. R. The amylase of Clostridium acetobutylicum. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 6, 795—804.
Scott D. B. M. and Cohen S. S. The oxidative pathway of carbohydrate metabolism in Escherichia coli. 1. The isolation and properties of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 1, p. 23—32.

Scott D. B. M. and Cohen S. S. The oxidative pathway of carbohydrate metabolism in Escherichia coli. 2. Quantitative studies of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 1, p. 33—36.
Seaman G. R. Biological conversion of protogen B to protogen A. J. biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 2, p. 813—818.
Sebek O. K. and Randles C. I. The oxidation of the stereoisomeric 2,3-butanediolis by Pseudomonas. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 40, No. 2, p. 373—380.
Sebek O. K. and Randles C. I. The oxidative dissimilation of mannitol and sorbitol by Pseudomonas fluorescens. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 6, p. 693—700.
Seegmiller J. E. Triphosphopyridine nucleotide-linked aldehyde dehydrogenase from yeast. J. biol. Chem., 1953, vol. 201, No. 2, p. 629—638.
Senez J. C. Métabolisme des acides aminés et des amides par les bactéries sulfato-réductrices. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 83, No. 6, p. 786—790.
Senez J. Sur l'activité et la croissance des bactéries anaérobies sulfato-réductrices en cultures semiautotrophes. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 84, No. 3, p. 595—604.
Sguros P. L. and Hartsell S. E. Aerobic glucose dissimilation by Achromobacter species. I. Fate of the carbon substrate. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 6, p. 811—820.
Sguros P. L. and Hartsell S. E. Aerobic glucose dissimilation by Achromobacter species. II. Indications of intermediate pathways. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 6, p. 821—827.
Shacter B. Influence of diethylstilbestrol and related substances on respiratory metabolism of yeast. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 46, No. 2, p. 312—323.
Shacter B. Influence of several sulfhydryl reagents on yeast metabolism. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 46, No. 2, p. 324—330.
Shapiro S. K. Response of Aerobacter aerogenes methionine auxotrophs to adenine thiomethyl compounds. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 310—312.
Sheffner A. L. and Grabow J. Amide synthesis and transamidation during growth of Saccharomyces cerevisiae. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 2, p. 192—196.
Sher I. H. and Mallette M. F. The use of bacteriophage in releasing two decarboxylases from Escherichia coli B. J. biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 1, p. 257—262.
Sherman F. G. Inhibition of fermentation by X-rays in normal and low nitrogen yeast. Exper., 1952, vol. 8, fasc. 11, p. 429—430.
Shigeura H. and Sprinson D. B. Biosynthesis of shikimic acid from labeled compounds. Federation Proc., 1952, vol. 11, No. 1, p. 286.
Shirk H. G. and Corey R. R. The influence of chemical structure on fungal activity. III. Effect of *o*-chlorination on phenols. Arch. Biochem. Biophys.,1952, vol. 38, p. 417—425.
Shockman G. D. and Toennies G. Methionine metabolism of Streptococcus faecalis. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 267.
Siegel A., Singer S. J. and Wildman S. A preliminary study of the high-molecular-weight components of normal and virus infected Escherichia coli. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 41, No. 2, p. 278—293.
Siegel A. and Singer S. J. The preparation and properties of desoxypentose-nucleic acid of bacteriophage T_2. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 2, p. 311—319.
Silliker J. H. and Rittenberg S. C. Studies on the aerobic oxidation of fatty acids by bacteria. III. The effect of 2,4-dinitrophenol on the oxidation of fatty acids by Serratia marcescens. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 2, p. 197—206.
Siminovitch L. et Jacob F. Biosynthèse induite d'un enzyme pendant le développement des bactériophages chez Escherichia coli K_{12} Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 83, No. 6, p. 745—754.
Simon E. W. The action of nitrophenols on respiration and on glucose assimilation in yeast. J. Exp. Bot., 1953, vol. 4, No. 12, p. 377—392.
Simon E. W. Dinitrocresol, cyanide, and the Pasteur effect in yeast. J. Exp. Biol., 1953, vol. 4, No. 12, p. 393—402.
Simonart P. et Chow K. Y. Etude du métabolisme d'acides aminés chez Aspergillus oryzae. I. Influence du pH sur la teneur en acides aminés libres d'Aspergillus oryzae cultivé sur «Casamino acids» et sur acide glutamique. Antonie van Leeuwenhoek, 1953, vol. 19, No. 2, p. 121—134.
Simonart P. et Chow K. Y. Etude du métabolisme d'acides aminés chez Aspergillus oryzae. II. Acides aminés libres du mycélium cultivé sur divers acides aminés. Antonie van Leeuwenhoek, 1953, vol. 19, No. 3, p. 245—255.
Simpson J. R. and Evans W. C. The metabolism of nitrophenols by certain bacteria. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 2, p. XXIV.
Singer T. P. and Kearney E. B. Studies on coenzyme. III. L-cysteine sulfinic dehydrogenase and its prosthetic group. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 2, p. 290—299.
Sirks J. L. Derivatives of *p*-aminobenzoic acid and their action on the growth of bacteria. Antonie van Leeuwenhoek, 1953, vol. 19, No. 2, p. 166—170.
Sirks J. L. Non-competitive antagonists for derivatives of p-aminobenzoic acid. Antonie van Leeuwenhoek, 1953, vol. 19, No. 2, p. 171—181.
Sistrom W. R. and Stanier R. Y. The mechanism of catechol oxidation by Mycobacterium butyricum. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 4, p. 404—406.

Siu R. G. H. and Reese E. T. Decomposition of cellulose by microorganisms. Bot. Rev., 1953, vol. 19, No. 7, p. 377—416.
Skeggs H. R., Driscoll C. A., Taylor H. N. and Wright L. D. The nutritional requirements of Lactobacillus bifidus and Lactobacillus leichmannii. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 6, p. 733—738.
Slade H. D. Hydrolysis of arginine by soluble enzymes of Streptococcus faecalis. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 42, p. 204—211.
Slade H. D. and Doughty C. C. Effect of arginine on growth and formation of arginine dihydrolase in Streptococcus faecalis. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 81, No. 3, p. 672—675.
Slade H. D. and Slamp W. C. The formation of arginine dihydrolase by streptococci and some properties of the enzyme system. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 455—466.
Slonimski P. P. Excrétion de porphyrines par la levure en anaérobiose. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 235, No. 18, p. 1064—1066.
Slonimski P. P. et Hirsch H. M. Nouvelles données sur la constitution enzymatique du mutant «petite colonie» de Saccharomyces cerevisiae. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952. t. 235, No. 14, p. 741—743.
Slonimski P. P. et Hirsch H. M. Rôle de l'oxygène dans le déterminisme de la constitution enzymatique de la levure. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 235, No. 16, p. 914—916.
Slotnick I. J., Visser D. W. and Rittenberg S. C. Growth inhibition of purine-requiring mutants of Escherichia coli by 5-nydroxyuridine. J. biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 2, p. 647—652.
Smith B. S. W., Jones J. D. and Evans W. C. The aromatic oxidative metabolism of certain benzene ring compounds by soil bacteria. Biochem. J., 1952, vol. 50, No. 5, p. XXVIII.
Smith E. L., Fantes K. H., Balls S., Waller I. G., Emery W. B., Anslow W. K. and Walker A. D. B_{12} vitamins (cobalamins). 1. Vitamins $B_{12}c$ and $B_{12}d$. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 3, p. 389—394.
Smith E. L., Hockenhull D. J. D. and Quilter A. R. J. Tracer studies with the B_{12} vitamins. 2. Biosynthesis of vitamin B_{12} labelled with ^{60}CO and P^{32}. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 3, p. 387—388.
Smith G. N. The influence of chloromycetin decomposition products on the growth of Escherichia coli and their effects on reversing the growth-inhibiting action of the antibiotic. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 40, No. 2, p. 314—322.
Smith L. Relationships of cytochromes *a* and a_3. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 270.
Smith P. F. and Hendlin D. Mechanism of phenylacetylcarbinol synthesis by yeast. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 4, 440—445.
Smith R. L., Anderson E. E., Overland R. N. and Schlenk F. The occurrence formation and isolation of thiomethyladenosine. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 42, No. 1, p. 72—82.
Smith R. L. and Schlenk F. The metabolic relation between methionine and adenine thiomethylriboside in yeast. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 38, p. 167—175.
Smithies W. R. The lysing action of enzymes on a sample of mycelium of Penicillium griseofulvum Dierskx. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 2, p. 346—349.
Smolens J. and Vogt A. B. Studies on antibiotic resistance and the nucleic acid content of bacteria. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 2, p. 140—146.
Snell N. and Lewis J. C. Nutritional studies with Lactobacillus fermenti. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 6, p. 671—677.
Sorensen H. Enzymatic hydrolysis of xylan. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4372, p. 305—306.
Sourkes T. L. and Trano Y. Reduction of methionine sulfoxides by Escherichia coli. Arch Biochem. Biophys., 1953, vol. 42, No. 2, p. 321—326.
Stacey M. Bacterial polysaccharides. Endeavour, 1953, vol. 12, No. 45, p. 38—42.
Stacey M. The significance of bacterial polysaccharides. Discovery, 1953, vol. 14, No. 9, p. 271—275.
Stadtman E. R. The coenzyme *A* transphorase system in Clostridium kluyveri. J. biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 1, p. 501—512.
Stadtman E. R. and Stadtman T. C. Metabolism of microorganisms. Ann. Rev. Microbiol., 1953, vol. 7, p. 143—178.
Stanier R. Y. Indole formation from tryptophan: a correction. J. Bact., 1952, vol. 64, ration Proc., 1952, vol. 11, No. 1, p. 291—292.
Stanier R. Y. Indole fermation from tryptophan: a correction. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 6, p. 893.
Stanier R. Y., Gunsalus I. C. und Gunsalus C. F. The enzymatic conversion of mandelic acid to benzoic acid. II. Properties of the particulate fractions. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5, p. 543—547.
Stark E. and Tetrault P. A. Observations on amylolytic bacteria. III. Cultural conditions influencing the breakdown of starch by stenothermophilic bacteria belonging to Bacillus stearothermophilus. Canad. J. Bot., 1952, vol. 30, No. 4, p. 360—370.

Starr M. P. and Saperstein S. Thiamine and the carotenoid pigments of Corynebacterium poinsettiae. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 43, No. 1, p. 157—168.
Stearns R. N. Respiration, rhodanese and growth in Escherichia coli. J. cell. comp. Physiol., 1953, vol. 41, No. 1, p. 163—170.
Steinberg D. The combined action of carboxypeptidase and B. subtilis enzyme on ovalbumin. J. Amer. Chem. Soc., 1953, vol. 75, No. 19, p. 4875—4876.
Steiner M. and Kating H. Über extrazellulare Umsetzungen von Aminosäuren und Amiden in Kulturen von Endomycopsis vernalis. Naturwiss., 1953, Jg. 40, H. 18, S. 487.
Stent G. S. and Maaløe O. Radioactive phosphorus tracer studies on the reproduction of T_4 bacteriophage. II. Kinetics of phosphorus assimilation. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 1, p. 55—69.
Stewart B. T. Heat resistant enzyme from bacterial spores. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 275.
Stewart B. T. and Halvorson H. O. Studies on the spores of aerobic bacteria. I. The occurrence of alanine racemase. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2, p. 160—166.
Stodola F. H., Koepsell H. J. and Sharpe E. S. A new disaccharide produced by Leuconostoc mesenteroides. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 12, p. 3202—3203.
Stodola F. H., Shotwell O. L. and Lockwood L. B. Zymonic acid, a new metabolic products of some yeasts grown in aerated culture. I. Structure studies. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 21, p. 5415—5418.
Stokes J. L. Nutrition of microorganisms. Ann. Rev. Microbiol., 1952, vol. 6, p. 29—48.
Stone D. Some aspects of the hydrolysis of proline peptides by a prolineless mutant of Escherichia coli. J. biol. Chem. 1953, vol. 202, No. 2, p. 821—828.
Stone D. and Hoberman H. D. Utilization of proline peptides by a prolineless mutant of Escherichia coli. J. biol. Chem., 1953, vol. 202, No. 1, p. 203—212.
Stoppani A. O., Actis A. S., Deferrari J. O. and Gonzalez E. L. The role of sulphhydryl groups of yeast carboxylase. Biochem. J., 1953, vol. 54, No. 3, p. 378—380.
Strassman M., Thomas A. J. and Weihouse S. Valine biosynthesis in Torulopsis utilis. J. Amer. Chem. Soc., 1953, vol. 75, No. 21, p. 5135.
Strassman M. and Weinhouse S. Lysine biosynthesis in Torulopsis utilis. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 13, p. 3457—3458.
Strassman M. and Weinhouse S. Biosynthetic pathways. III. The biosynthesis of lysine by Torulopsis utilis. J. Amer. Chem. Soc., 1953, vol. 75, No. 7, p. 1680—1684.
Sutton W. B. Purine metabolism of heterotrophic bacteria. Iowa State Coll. J. Sci., 1953, vol. 27, No. 2, p. 261—262.
Sutton W. B. and Werkman C. H. The carbon and nitrogen precursors of bacterial purines. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 47, No. 1, p. 1—7.
Swendseid M. E., Wright P. D. and Bethell F. H. A growth factor for L. citrovorum synthesized by hemopoietic tissue reversing aminopterin and chloromycetin inhibition. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 80, No. 4, p. 689—690.
Szulmajster J., Grunberg-Manago M. et Aubel E. Biosynthèse de l'éthyl phosphate par la levure. Bull. Soc. chim. biol., 1953, t. 35, No. 5—6, p. 455—466.
Szulmajster J., Grunberg-Manago M. et Prouvost A. Sur le métabolisme aérobie et anaérobie de E. coli. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 9, No. 6, p. 636—644.
Tabachnik J. and Joslyn M. A. Formation of esters by yeast. I. The production of ethyl acetate by standing surface cultures of Hansenula anomala. J. bact., 1953, vol. 65, No. 1, p. 1—9.
Tabachnik J. and Joslyn M. A. Formation of esters by yeast. II. Investigations with cellular suspensions of Hansenula anomala. Plant Physiol., 1953, vol. 28, No. 4, p. 681—693.
Tabone J. et Robert D. La dégradation du tryptophane par B. megathérium. Bull. Soc. Chim. Biol., 1952, t. 34, No. 11, p. 1102—1105.
Tabone J. et Robert D. La bio-estérification du glucose. IV. Biosynthèse par B. megatherium de deux combinaisons labiles du glucose avec l'acide indol propionique. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 35, No. 8, p. 815—818.
Tabone J. et Tabone D. Bio-estérification du glucose. V. Biosynthèse par Bacillus megatherium de l'ester β-glucosidique de l'acide indolpropionique. C. R. Acad. Sc., 1953, t. 237, No. 16, p. 943—944.
Tamboline F. R. Nitrogen and vitamin requirements of Pseudomonas hydrophila. Canad. J. Bot., 1953, vol. 31, No. 2, p. 206—211.
Tanami J. and Kawashima H. Relationships between HCl-cysteine and glutamic acid for the multiplication of coliphage. Virus (Kyoto Univ.), 1953, vol. 3, No. 2, p. 129—134.
Tarver H., Tabachnick M., Canellakis E. S., Fraser D. and Barker H. A. Biosynthesis of C^{14}-labeled protein and amino acids with Rhodospirillum rubrum. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 41, No. 1, p. 1—8.

СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные статьи

Н. Б. Нечаева. Изучение процесса образования метана под влиянием микроорганизмов из кернов газонефтеносных пластов второго Баку 3

А. А. Имшенецкий. О миксобактериях, принятых за нитрифицирующие бактерии 14

Е. Л. Рубан. О проверке чистоты культур Nitrosomonas 22

М. В. Федоров и Г. К. Бондаренко. Влияние нитратов и нитритов на газообразующую активность Bact. coli и выходы других продуктов брожения 25

Н. Б. Заварзина. Разработка методики получения культур Scenedesmus quadricauda и Daphnia longispina, помеченных радиоактивным фосфором . . . 31

А. Я. Мантейфель и Е. И. Козлова. Свободноживущие азотфиксаторы в почвах под степью и под лесом районов Камышина, Сталинграда и Тингуты 36

Г. Н. Блинков. О влиянии засоления на Azotobacter chroococcum и Azotobacter galophilum 43

Е. В. Рунов и М. Г. Еникеева. Влияние опада древесно-кустарниковой растительности на микрофлору черноземных почв сухой степи 48

Н. А. Полянский. Эффективность азотобактерина, приготовленного на сапропеле 57

А. И. Кореняко, А. Г. Кучаева и И. Е. Мишустина. Распространение актиномицетов-антагонистов в почвах Кольского полуострова 62

Н. С. Егоров и А. Н. Полин. Актиномицеты-антагонисты почв среднего течения р. Лены 67

А. Г. Романкова и Ю. П. Кобрина. Об антагонистических свойствах грибов рода Penicillium из различных систематических групп 73

Ю. О. Сазыкин. Изучение действия альбомицина и некоторых других антибиотиков на размножающуюся культуру бактерий 75

М. В. Иванов. Метод определения продукции бактериальной биомассы в водоеме 79

С. М. Гершензон. О видовой специфичности вирусов полиэдренной болезни насекомых 90

Дискуссия

Ю. М. Возняковская. Удобрение и микрофлора почвы 99

Обзоры

Г. Ф. Гаузе. Некоторые вопросы систематики актиномицетов 103

Критика

А. А. Имшенецкий — В. Л. Елин. Изменчивость микробов 114

Хроника

М. Н. Мейсель и Я. И. Раутенштейн. К юбилею академика В. А. Энгельгардта 118

Н. В. Нарциссов и А. М. Гардатьян. К 60-летнему юбилею Л. А. Зильбера 119

Н. А. Комарницкий. Л. И. Курсанов (Некролог) 121

Библиография

Иностранная литература 123

Т-01558 Подписано к печати 15.II 1955 г. Печ. лист. 10,96 + 2 вклейки
Уч.-издат. л. 13,0 Формат бумаги 70×108¹/₁₆ Бум. л. 4 Тираж 6025 экз. Зак. 920

2-я типография Издательства Академии наук СССР. Москва, Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

Кантора «Академкнига»

ОТКРЫТА ПОДПИСКА НА 1955 Г.

НА РАЗДЕЛ „БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ“

РЕФЕРАТИВНОГО ЖУРНАЛА „ХИМИЯ“

В 1955 году раздел «Биологическая химия Реферативного журнала «Химия» будет выходить в виде отдельного выпуска в количестве 24 номеров в год, в которых будет помещено около 15 000 рефератов.

В выпуске «Биологическая химия» будет реферироваться вся мировая литература по следующим разделам: Общие вопросы и методы биохимических исследований. Биохимия белка и аминокислот. Ферменты. Витамины. Гормоны и другие биоактивные соединения. Биохимия животных, растений и микробов. Вирусы, бактериофаги. Антибиотики. Иммунохимия. Техническая биохимия. Медицинская биохимия. Биохимия питания и кормления. Фармакология и токсикология.

Годовые указатели (авторский и предметный) будут общими для основного Реферативного журнала «Химия» и для отдельного выпуска «Биологическая химия».

Выпуск «Биологическая химия» предназначается для научных и практических работников в области биохимии, химии, биологии, медицины, сельского хозяйства и смежных областей науки.

Стоимость годовой подписки 108 руб.

Подписка принимается городскими и районными отделами «Союзпечати», отделениями и агентствами связи, магазинами «Академкнига», а также Конторой «Академкнига» по адресу: Москва, Пушкинская ул., д. 23.